MP. INST. N
— LIBRARY —
- 3 JUL 1939
RIAL Fw. 452
PARATE

ARCHIVES ROUMAINES

DE

PATHOLOGIE EXPÉRIMENTALE

ET DE

MICROBIOLOGIE

Fondées par J. CANTACUZÈNE

Dirigées par

C. IONESCO-MIHAIESTI, A. CIUCA et M. CIUCA

Tome 11. — N° 2

Juin 1938

MASSON & Cie, ÉDITEURS

LIBRAIRES DE L'ACADÉMIE DE MÉDECINE

120, BOULEVARD SAINT-GERMAIN, PARIS

SOMMAIRE DU N° 2

Juin 1938.

MÉMOIRES ORIGINAUX.

V. BARONI. — *Influence de quelques toxines bactériennes sur les tumeurs de Jensen des rats* 125

E. C. CRACIUN, Ion GASPAR et Alexandre URSU. — *Sur les relations entre la lympho-granulomatose maligne et la tuberculose* 143

S.-A. STURDZA. — *Sur la lyse du pneumocoque par le chloroforme* 171

Costin FULGA. — *Septicémie à* Bacillus Funduliformis 187

Démètre JONNESCO. — *Notes sur la rage* 199

G. ZOTTA. — *Contribution à l'étude de la distribution des races d'*Anopheles Maculipennis *en rapport avec les grandes lignes de répartition du paludisme en Roumanie* 209

L. MESROBEANU et O. NOEPPEL. — *Revue des travaux sur le lysozyme* 247

ARCHIVES ROUMAINES
DE PATHOLOGIE EXPÉRIMENTALE
ET DE MICROBIOLOGIE

TOME 11 *N° 2* *JUIN 1938*

MÉMOIRES ORIGINAUX

INFLUENCE DE QUELQUES TOXINES BACTÉRIENNES SUR LES TUMEURS DE JENSEN DES RATS

par

V. BARONI

(Laboratoire de Bactériologie,
Faculté de Médecine de Cluj)

Plusieurs considérations nous ont déterminé d'entreprendre l'étude des relations de réciprocité entre les diverses bactéries et les tumeurs :

1° Pendant les dernières sept années, il nous est arrivé de perdre les tumeurs que nous entretenions par passages. A deux reprises, la disparition de la virulence a coïncidé avec l'apparition d'une épizootie accidentelle parmi les rats de notre élevage. Les tumeurs ne prenaient plus sur les rats de la souche atteinte par la maladie. Il paraissait donc que les animaux qui survécurent à l'infection devenaient résistants à la tumeur.

2° Des cas de guérison du cancer humain à la suite de maladies infectieuses ont été citées dans la littérature entre 1866 et 1903. Le plus souvent, il s'agissait d'un érysipèle. Ainsi Nélaton, puis Dauchez, en 1882, parlent d'un érysipèle salutaire. Bruns, en

Publication périodique trimestrielle.

1888, décrit trois cas de guérison de sarcome et un de cancer, après l'érysipèle. Czerny rapporte une guérison de récidive après un cancer de la mamelle. Plus tard, Muller décrit deux sarcomes disparus à la suite de suppurations, dont une était due à un pyocyanique. Récemment, Wintz publie un cas de guérison d'un cancer de la mamelle à la suite d'une septicémie dont il ne précise pas l'agent. D'après Straus, à qui l'on doit une revue sur cette question, il s'agit, dans la majorité des cas favorables, de sarcomes. Le cancer serait moins souvent influencé dans le sens favorable, mais, au contraire, il serait le plus souvent aggravé à la suite des infections. C'est d'ailleurs l'avis de la plupart des auteurs récents qui redoutent soit les streptococcies généralisées, soit les infections locales comme celles de l'utérus porteur de tumeur.

Depuis les progrès des méthodes de diagnostic, la description des cas de guérison devient plus rare. Dans les ouvrages récents de cancérologie, le rôle des streptocoques n'est pas pris en considération. Il serait souvent difficile à départager le rôle d'une infection spontanée de l'effet du traitement radiothérapique.

Cependant beaucoup de cliniciens ont observé une amélioration passagère du cancer après une infection streptococcique.

3° Malgré tout, les infections bactériennes chez les porteurs de tumeur sont loin d'être indifférentes. L'effet nocif des infections, généralement admis, n'exclut pas la possibilité d'une action favorable sur le même processus, comme dans quelques-uns au moins des cas mentionnés plus haut.

4° Avec une méthode d'application différente, on peut obtenir, en question d'immunité, des résultats opposés. On sait que l'injection de tissu embryonnaire protège les animaux de laboratoire contre les tumeurs de greffe. Nous avons confirmé, avec Comsia, ces données, et nous avons précisé que l'insertion à deux reprises de tissu embryonnaire non altéré protège les rats contre le sarcome de Jensen, mais que l'insertion du greffon, en même temps que le tissu embryonnaire, provoque au contraire une exaltation de la croissance de la tumeur. Donc, par une administration différente des mêmes substances, on obtient, au lieu d'une immunité, une plus grande réceptivité. Nous avons constaté des faits semblables avec le tissu placentaire.

5° La proposition de Coley, d'utiliser l'observation des cliniciens cités et d'imiter les processus naturels, n'a pas été suivie. On sait, par les travaux de Fehleisen et de Koch, que les essais de provoquer chez l'homme une streptococcie par injection de culture de streptocoque, en vue d'obtenir la guérison du cancer,

ont donné lieu à des accidents fâcheux, à cause de la virulence des cultures employées.

6° Si les observations cliniques citées plus haut reposent sur des faits réels, on peut penser que, dans certaines conditions, l'agent bactérien peut provoquer une immunité envers les tumeurs.

L'immunité consécutive à l'infection streptococcique paraît être en relation avec la toxigénèse des souches respectives. On admet depuis quelques années que les souches très virulentes n'immunisent pas, tandis que les streptocoques qui sécrètent une toxine soluble créent un état d'immunité.

Or, pour éviter, tant chez l'homme que chez l'animal, les difficultés dues à la virulence des germes, il serait logique d'entreprendre des expériences avec les toxines respectives que l'on peut doser à volonté et qui produiraient plus sûrement un état d'immunité.

7° Les infections bactériennes qui peuvent intéresser le plus, et à divers titres, les cancérologues, sont celles dues au streptocoque et au gonocoque. On a beaucoup étudié, depuis Dick, les streptocoques hémolytiques isolés dans la scarlatine, qui sécrètent une toxine érythrogène.

C'est pour ces raisons que nous avons commencé nos expériences avec ces deux espèces microbiennes. Bien qu'elles ne jouent aucun rôle dans la pathologie des animaux de laboratoire, l'étude des réactions d'immunité qu'elles pourraient provoquer envers les tumeurs peut être faite d'abord chez ceux-ci.

8° Nous avions précisé, en collaboration avec M. Comsia, pour les bacilles B. C. G., et avec M^me^ Baroni, en ce qui concerne les levures du borch et puis des bacilles paratuberculeux, les points suivants :

Le B. C. G., inoculé dans le péritoine des rats greffés sous la peau avec du sarcome de Jensen, cause la désagrégation de la tumeur, suivie dans la plupart des cas de la mort de l'animal; les levures exaltent la croissance des tumeurs de greffe; les paratuberculeux (expériences non publiées), injectés par diverses voies, augmentent les tumeurs, ainsi que la mortalité chez les rats porteurs de tumeur.

S'il y a donc des espèces microbiennes inoffensives pour l'animal neuf, qui exercent une influence nocive sur l'animal porteur de tumeur, il paraît que d'autres germes ont une action différente.

En résumé, si les phénomènes de résistance à la tumeur chez les animaux qui ont fait une infection spontanée, et d'améliora-

tion de cancer humain après certaines infections, sont dus à des processus d'immunisation soit antibactérienne, soit antitoxique, la question mérite d'être étudiée d'une façon plus détaillée.

Nous nous sommes donc proposé de voir quelle est l'action des toxines streptococcique et gonococcique sur les tumeurs, quand on les administre à l'animal : 1° au préalable; 2° peu de temps après la greffe; 3° après la greffe de tumeur.

PRÉPARATION DES TOXINES

Nous nous sommes servis de deux souches de streptocoque isolées récemment des cas de scarlatine (streptocoque 13 et streptocoque 14), et d'une souche de gonocoque isolée récemment d'une urétrite aiguë (goncoque 18).

Les streptocoques sont cultivés en bouillon pendant 24 heures à 37°.

La culture de streptocoque 13 est tenue pendant huit jours à 25°, et puis chauffée une demi-heure à 60°. Le liquide est clair et contient des grumeaux de streptocoques.

La culture de streptocoque 14, après 24 heures d'étuve, présentait des grumeaux composés de streptocoques, le liquide étant clair; elle est inactivée pendant une heure à 60°. Cependant, après quelques jours à la température de 25°, le liquide s'est troublé fortement et l'on a constaté la présence d'un bacille au Gram négatif; les ensemencements ne donnèrent que des colonies de ce germe. Nous avons pensé d'utiliser également ce mélange de toxines streptococciques avec le germe banal à l'état vivant.

Pour les séries II et III, nous avons employé :

1° Une culture en bouillon de 24 heures de streptocoque 13, filtrée par la bougie Chamberland L_3.

2° Une culture en bouillon de 48 heures, chauffée pendant une heure à 65°.

Quant au gonocoque, nous avons employé des cultures de gonocoque 18 tenues pendant quatre jours à 37° en bouillon-ascite, et laissées ensuite pendant quelques jours à la glacière jusqu'à ce que les ensemencements deviennent négatifs.

TUMEUR ET TECHNIQUE DES GREFFES

Nous avons employé une tumeur de Jensen qui tuait les animaux de notre élevage en proportion de 75 %, et ceci d'une façon presque constante dans les derniers passages.

Pour les greffes, nous nous servions d'une série de 12 canules en verre de 4 millimètres de diamètre intérieur, munies de leurs pistons également en verre, qui étaient stérilisées pour chaque lot d'animaux.

Au moyen de ces canules, on introduisait sous la peau du dos de l'animal, à une distance de 10 centimètres de l'incision de la peau, pratiquée au-dessus de la racine de la queue, deux à trois fragments d'un sarcome de Jensen d'un poids total d'environ 0,15 gr.

Chaque lot de témoins recevait des greffes provenant de la même tumeur.

DISPOSITIF DES EXPÉRIENCES

Nous avons pensé d'abord d'administrer les toxines au préalable et de pratiquer la greffe après un intervalle de dix jours depuis la dernière injection. Un lot d'animaux neufs ont été greffés pour servir de témoins; nous avons ajouté encore deux lots de témoins qui reçurent les mêmes quantités de liquides qui ont servi à la culture.

La première série d'expériences comprend six lots de 12 rats chacun. Ils reçoivent, tous les trois à quatre jours, six injections, pratiquées sous la peau de la partie intérieure de la cuisse droite, de 0,5 à 1 centimètre cube des substances suivantes :

1° Toxines du streptocoque 13;
2° Toxines du streptocoque 14, mélangées aux bacilles vivants;
3° Toxines du gonocoque 18;
4° Bouillon nutritif;
5° Bouillon ascite;
6° Un lot réservé comme témoins.

Deux jours après la dernière injection, tous les animaux traités, ainsi que les témoins, furent greffés avec le sarcome de Jensen.

La deuxième série. Pour voir comment se comportent les tumeurs greffées immédiatement après les injections des toxines, nous avons traité deux lots de rats par :

1° Des toxines streptococciques filtrées ;

2° Des toxines streptococciques chauffées.

Avant la dernière injection, ils reçoivent une greffe de sarcome en même temps qu'un troisième lot d'animaux neufs.

Une troisième série comprend quatre lots de rats greffés d'abord avec la tumeur, dont trois lots sont traités ensuite comme suit :

1° Par des injections de toxine de streptocoque 13 filtrée;

TABLEAU I **Injections de toxines streptococcique**

	Juillet			Août															
	26	28	30	1er	3	5	7	9	11	13	15	17	19	21	23	25	27	29	31
	Injections en cc.																		
1.....	0,5	1		1	1		1		1										
2.....	»	»		»	»		»		»										
3.....	»	»		»	»		»		»										
4.....	»	»		»	»		»		»										
5.....	»	»		»	»		»		»										
6.....	»	»		»	»		»		»										
7.....	»	»		»	»		»		»										
8.....	»	»		»	»		»		»										
9.....	»	»		»	»		»		»										
10.....	»	»		»	»		»		»										
11.....	»	»		»	»		»		»										
12.....	»	»		»	»		»		»										

Tous les animaux reçoivent une greffe de sarcome.

Les volumes des greffons varient entre 1,5 et 4.

TABLEAU II **Injections de toxines streptococciques et microb**

	Juillet			Août															
	26	28	30	1er	3	5	7	9	11	13	15	17	19	21	23	25	27	29	31
	Injections en cc.																		
1.....	0,5	1		1	1		1		1										
2.....	»	»		»	»		»		»										
3.....	»	»		»	»		»		»										
4.....	»	»		»	»		»		»										
5.....	»	»		»	»		»		»										
6.....	»	»		»	»		»		»										
7.....	»	»		»	»		»		»										
8.....	»	»		»	»		»		»										
9.....	»	»		»	»		»		»										
10.....	»	»		»	»		»		»										
11.....	»	»		»	»		»		»										
12.....	»	»		»	»		»		»										

Tous les animaux reçoivent une greffe de sarcome.

Dimensions des greffons plus grandes que chez les témoins.

2° Par des injections de toxine de streptocoque 13 chauffée;

3° Par des injections de toxine gonococcique, et le quatrième lot sert comme témoin.

RÉSULTATS

Nous donnons ci-après les tableaux des expériences de chaque série. Les chiffres inscrits se rapportant à l'évolution des tumeurs représentent le produit des trois dimensions des tumeurs, par

dix jours plus tard, greffe de sarcome.

Septembre														Oct.	Nov.	Déc.
3	5	7	9	11	13	15	17	19	21	23	25	27	29	30	20	20	20
	Ulcération.					Croûte.			Cicatr.						ø		Six animaux sont encore vivants.
	+ Ulcération.																
	Ulcération.					Ulcération.			Cicatr.						ø		
	Ulcération.					Cicatrice.			+								
	Ulcération.					Croûte.									ø		
	Ulcération.					Ulcération.			Croûte.			Cicatr.			ø		
	Ulcération.					Cicatrice.									ø		
	Ulcération.					Cicatrice.									ø		
	Ulcération.					Cicatrice.									ø		
	Ulcération.					Ulcération.			Cicatr.						ø		
	Ulcération.					Ulcération.			Croûte.			Cicatr.			ø		
	Ulcération.					Croûte.			Cicatr.						ø		

ınt; dix jours plus tard, greffe de sarcome.

Septembre														Oct.	Nov.	Déc.
3	5	7	9	11	13	15	17	19	21	23	25	27	29	30	20	20	20
	Ulcération.					Croûte.			Cicatr.						ø		Huit animaux sont encore vivants.
	Ulcération.					Croûte.			Cicatr.						ø		
	Ulcération.			3		15			42		43			78 +			
	Ulcération.			Croûte.		Cicatrice.									ø		
	Ulcération.			Croûte.		Cicatrice.									ø		
	Ulcération.					Cicatrice.									ø		
	7			17		35			38 +								
	Ulcération.					Ulcération.					Croûte.				ø		
	Ulcération.					Ulcération.					Cicatr.				ø		
	Ulcération.			Croûte.		+											
	+ Ulcération.																
	Ulcération.					Ulcération.			Cicatr.						ø		

exemple : le chiffre 15 correspond aux dimensions de la tumeur $2 \times 2{,}5 \times 3$ centimètres; le signe O indique la guérison de la tumeur; le signe +, la mort de l'animal.

PREMIÈRE SÉRIE

Du tableau VI, on voit que sur les 12 animaux non traités et greffés avec le sarcome de Jensen, 8 ont fait des tumeurs volumineuses et sont morts ensuite.

TABLEAU III — **Injections de toxines gonococcique**

	Juillet			Août																
	26	28	30	1er	3	5	7	9	11	13	15	17	19	21	23	25	27	29	31
	Injections en cc.																			
1.....	0,5	1		1	1		1		1						Tous les animaux reçoivent une greffe de sarcome.			Les greffons sont plus volumineux que chez les témoins du tableau VI.	
2.....	»	»		»	»		»		»										
3.....	»	»		»	»		»		»										
4.....	»	»		»	»		»		»										
5.....	»	»		»	»		»		»										
6.....	»	»		»	»		»		»										
7.....	»	»		»	»		»		»										
8.....	»	»		»	»		»		»										
9.....	»	»		»	»		»		»										
10.....	»	»		»	»		»		»										
11.....	»	»		»	»		»		»										
12.....	»	»		»	»		»		»										

TABLEAU IV — **Injections de bouillo**

	Juillet			Août																
	26	28	30	1er	3	5	7	9	11	13	15	17	19	21	23	25	27	29	31
	Injections en cc.																			
1.....	0,5	1		1	1		1		1						Tous les animaux reçoivent une greffe de sarcome.			Les greffons sont plus volumineux que chez les témoins du tableau VI.	
2.....	»	»		»	»		»		»										
3.....	»	»		»	»		»		»										
4.....	»	»		»	»		»		»										
5.....	»	»		»	»		»		»										
6.....	»	»		»	»		»		»										
7.....	»	»		»	»		»		»										
8.....	»	»		»	»		»		»										
9.....	»	»		»	»		»		»										
10.....	»	»		»	»		»		»										
11.....	»	»		»	»		»		»										
12.....	»	»		»	»		»		»										

Les rats injectés avec le bouillon nutritif (tableau IV), ainsi que ceux injectés avec le bouillon ascite (tableau V), ont tous péri avec des tumeurs très grandes; donc ces liquides nutritifs ont augmenté la mortalité à la suite des greffes positives.

Les animaux du premier lot (tableau I) ont bien supporté les injections avec les toxines streptococciques. Trois seulement ont présenté des empâtements au lieu d'injection ou dans d'autres régions. Au bout d'une semaine après l'insertion de la tumeur, on a constaté un développement plus volumineux des greffons que chez les témoins de la série VI. Quelques jours après, tous

dix jours plus tard, greffe de sarcome.

Septembre															Oct.	Nov.	Déc.
3	5	7	9	11	13	15	17	19	21	23	25	27	29	30	20	20	20
	Ulcération.					Croûte.			Cicatr.						∅		
	Ulcération.					Cicatrice.									∅		
	Ulcération.					Cicatrice.				+							
	Ulcération.					Croûte.			Cicatr.						∅		
	Ulcération.					Ulcération.			Cicatr.						∅		
	Ulcération.					Ulcération.					Croûte.		Cicatr.		∅		
	Ulcération.					Ulcération.					Cicatr.				∅		
	Ulcération.					Ulcération.					Ulcér.		Croûte.		∅	+	
	Ulcération.					Croûte.					Cicatr.				∅	+	
	Ulcération.					Ulcération.					Croûte.				∅		
	Ulcération.					Cicatrice.									∅		
	Ulcération.			+													

tritif, greffe de sarcome.

Septembre															Octobre				
3	5	7	9	11	13	15	17	19	21	23	25	27	29	30	1er	3	5	7	9
	4			5		10			31		54			71		+			
	5			7		16			30		70			85			130	+	
	6			16		25		+		130	+								
	21			35		85				30	+								
	18			31		42													
	5			15		14			+										
	12			28		70				125	+								
	14			29		60				72	80			+					
	10			21		46				70	120			130	+				
	2			4		2			+										
	8			20		60				73	130			+					
	17			28		70				120	162		+						

les nodules commencent à s'exulcérer et la tumeur s'élimine progressivement. Un seul animal meurt avec une petite tumeur ulcérée et un autre succombe au bout d'un mois après guérison de la tumeur; le reste des dix animaux ont guéri, la tumeur s'étant éliminée par nécrose et ulcération, et ils ont survécu pendant plus de deux mois. A la fin du quatrième mois, six animaux de ce lot sont encore vivants.

Du tableau II, on voit que les rats traités par les toxines streptococciques mélangées aux bacilles vivants ont bien supporté ces injections; les greffes ont donné des tumeurs volumineuses chez

TABLEAU V — **Injections de bouillon nutri**

	Juillet			Août															
	26	28	30	1er	3	5	7	9	11	13	15	17	19	21	23	25	27	29	31
	Injections en cc.														Tous les animaux reçoivent des greffes de sarcome.			Les greffons ont des dimensions plus grandes que chez les témoins.	
1.....	0,5	1		1	1		1		1										
2.....	»	»		»	»		»		»										
3.....	»	»		»	»		»		»										
4.....	»	»		»	»		»		»										
5.....	»	»		»	»		»		»										
6.....	»	»		»	»		»		»										
7.....	»	»		»	»		»		»										
8.....	»	»		»	»		»		»										
9.....	»	»		»	»		»		»										
10.....	»	»		»	»		»		»										
11.....	»	»		»	»		»		»										
12.....	»	»		»	»		»		»			+							

TABLEAU VI — **Greffe de sarcom**

	Août												
	21	23	25	27	29	31	1er	3	5	7	9		
		Tous les animaux reçoivent des greffes de sarcome.			Les volumes des greffons varient entre 1 et 3.								
1.....									15				
2.....									13				
3.....									18				
4.....									11				
5.....									8				
6.....									12				
7.....									0,5				
8.....									1				
9.....									12				
10.....									28				
11.....									3				
12.....									17				

deux animaux qui sont morts plus tard; deux animaux ont succombé peu de temps après la greffe. Après un développement précoce, les greffons se sont ulcérés par la suite, et chez huit animaux la tumeur s'est éliminée en laisant des cicatrices. Le nombre des guéris a été de 66 %. Quatre mois plus tard, les huit animaux guéris sont encore en vie.

Les injections des toxines gonococciques ont été plus mal supportées. On observait chez la plupart des animaux des collections purulentes qui s'ouvraient plus tard à l'extérieur en laissant la peau dénuée de poils dans ces régions. La greffe se développait

te, greffe de sarcome.

Septembre															Octobre				
3	5	7	9	11	13	15	17	19	21	23	25	27	29	30	1er	3	5	7	9
	13			28		42			81		135		+						
	24			43		94			130		150	+							
	15			37		40		+											
	14			21		48			79		67			88		+			
	6			15		50			72		105		+						
	17			39		86		+											
	7			12		15			16		41			86				+	
	0,25			Est gravide.						Met bas									∅
	22			50		105			146	+									
	12			28		70			96			+							
	11			30		+													

de témoins.

Septembre										Octobre			
11	13	15	17	19	21	23	25	27	29	1er	3	5	7
	+												
		+											
		68			99	+							
		52			94		+						
		54			77			130		130		+	
		47		+									
lcération.		Cicatrice.											∅
		Ulcération.			Croûte.								∅
		37			60			87		+			
		76			84			122	+				
,5		Croûte.											∅
		61			86		+						

bien au commencement, mais bientôt se produisait la nécrose et l'ulcération de la peau, et la tumeur s'éliminait complètement, laissant des cicatrices rougeâtres étendues qui se décoloraient lentement. L'état général des animaux était cependant très mauvais et, au bout de quatre mois, il ne restait en vie que trois animaux seulement.

En résumé, nous avons constaté que les injections des liquides nutritifs augmentent la mortalité à la suite des tumeurs greffées. Les injections de toxine streptococcique provoquent un état de résistance envers les tumeurs, dans les conditions de nos expériences, car les greffes, qui prenaient d'abord, sont éliminées ensuite.

Un résultat analogue a été obtenu en administrant des toxines gonococciques, mais ici nous observons la formation d'abcès qui guérissent lentement, accompagnés d'une débilité de l'organisme suivie quelquefois de mort.

Par l'injection streptococcique mélangée à un microbe banal vivant, on obtient un état de protection moins accentué, mais toutefois appréciable, envers la tumeur. Dans le tableau ci-joint, nous donnons le pourcentage des prises de greffes dans chaque lot de cette série.

PREMIÈRE SÉRIE D'EXPÉRIENCES

Rats (%)	Traités par injections préalables avec					Témoins non traités
	toxines streptococciques	toxines streptococciques avec microbe vivant	toxines gonococciques	bouillon	bouillon ascite	
Morts avec tumeur..	8,3	16,6	8,3	100	91	75
Morts après guérison.	8,3	16,6	27,7			
Guéris.....	91,7	66,7	91,7	0	9	25

DEUXIÈME SÉRIE

Les résultats sont consignés dans les tableaux VII, VIII et IX. Les chiffres indiquent le produit des trois dimensions des tumeurs (pages 138 et 139).

On voit que la greffe de tumeur faite immédiatement après l'administration des toxines streptococciques se développe d'abord plus rapidement chez les animaux traités par les toxines que chez les animaux neufs gardés comme témoins. Par la suite, le nombre des guérisons est plus grand chez les animaux traités : ainsi, avec la toxine streptococcique chauffée, toutes les tumeurs s'exulcèrent et disparaissent; avec la toxine streptococcique filtrée, on enregistre deux morts à la suite des tumeurs sur huit animaux, tandis que chez les témoins la mortalité a été de quatre sur huit.

On constate donc un effet protecteur des toxines, même quand on ne laisse pas un intervalle de temps jusqu'à la greffe, qui est moins marqué avec les substances préparées par filtration et plus accentué avec le mélange des toxines contenues dans le bouillon de culture.

Ajoutons que, de même que dans la série précédente, les greffons des animaux traités sont, au commencement, plus volumineux que ceux des témoins : le sixième jour, on trouve les chiffres moyens de 2,8 et de 1,6 chez les premiers et de 1,1 chez les seconds.

Nous exprimons ces résultats en pourcentage dans le tableau suivant :

DEUXIÈME SÉRIE D'EXPÉRIENCES

Rats (%)	Toxines streptococciques		Témoins
	filtrées	chauffées	
Ont fait des tumeurs.....	75	40	80
Sont morts avec tumeurs.....	25	0	40

TABLEAU VII **Injections de toxines streptococciques**

	Octobre				Novembre										
	23	25	27	29	1er	3	5	7	8	9	11	13	15	17	19
1.....	1		1		1		1	1	Tous les animaux reçoivent une greffe de sarcome.			1	1,5		1,6
2.....	»		»		»		»	»				»	3		2,2
3.....	»		»		»		»	»				»	2,5		11
4.....	»		»		»		»	»				»	4		2
5.....	»		»		»		»	»				»	3,6		5,6
6.....	»		»		»		»	»				»	3,6		3
7.....	»		»		»		»	»				»	2,2		2,3
8.....	»		»		»		»	»				»	1,5		3

TABLEAU VIII **Injections de toxines streptococciques**

	Octobre				Novembre										
	23	25	27	29	1er	3	5	7	8	9	11	13	15	17	19
1.....	1		1		1		1	1	Tous les animaux reçoivent une greffe de sarcome.			1	1,5		2,2
2.....	»		»		»		»	»				»	1,5		4
3.....	»		»		»		»	»				»	1,3		1,8
4.....	»		»		»		»	»				»	1,8		1,1
5.....	»		»		»		»	»				»	1,9		2
6.....	»		»		»		»	»				»	2,2		1,8
7.....	»		»		»		»	»				»	1,6		1,7
8.....	»		»		»		»	»				»	1		4,9

TABLEAU IX **Greffe de sarcome**

	Novembre											
	8	10	12	14	16	18	20	22	24	26	28	30
1.....	Tous les animaux reçoivent une greffe de sarcome.			1		1,7		4		5		
2.....				1,3		6		12		7		
3.....				1,3		6		9		9		
4.....				1		1,2		1		3		
5.....				1,5		0,5		0,2		Ulcération.		
6.....				1,2		5,6		8		15		
7.....				0,8		1		3,3				
8.....				1		2,2		1,6				
9.....				1		1,2		2,3		10		
10.....				1		2,5		10		17		

rées et greffe de sarcome.

					Décembre										
1	23	25	27	29	1er	3	5	7	9	11	13	15	17	19	21	23
2		2				Cicatr.										Ø
		4				Ulcér.					Croûte.					Ø
		0,5				Cicatr.										Ø
		10				10					5			1,1		Croûte
		22				46				+						
		3,5				2,2					0,4			Croûte.		Ø
		2				Ulcér.					Cicatr.					Ø
		22				36		+								

uffées à 69° et greffe de sarcome.

					Décembre										
1	23	25	27	29	1er	3	5	7	9	11	13	15	17	19	21	23
,5		3			4	Ulcér.					1,2		Croûte.			Ø
		3,6				2,2		Ulcér.			Cicatr.					Ø
lcér.											Cicatr.					Ø
		0,8				Ulcér.					Cicatr.					Ø
lcér.											Cicatr.					Ø
,3		Ulcér.				Cicatr.					Cicatr.					Ø
lcér.											Cicatr.					Ø
,3		Ulcér.									Cicatr.					Ø

de témoins.

Décembre											
1er	3	5	7	9	11	13	15	17	19	21	23
6						Ulcération.					Ø
3						Cicatrice.					Ø
16						+					
6						42		60	+		
						Cicatrice.					Ø
15						Ulcération.					Ø
	Ulcération.				4	Cicatrice.					Ø
	Ulcération.					Cicatrice.					Ø
19						75		+			
32						112		+			

TABLEAU X — **Greffe de sarcome, ensuite**

	Octobre					Novembre								
	22	24	26	28	30	1er	3	5	7	9	11	13	15	17
	23		27		31		4		10					
Tous les animaux reçoivent une greffe de sarcome.	Injections		Injections		Injections		Injections		Injections		Injections			
1. Toxine filtrée ...					6	5			10		17	40		
2. » » ...					4	7			6		12	32		
3. » » ...					3	8			8		10	24		
4. » » ...					0,4	7			12		24	44		
5. » » ...					3	5			15		21	60		
6. Toxine chauffée .					3,6	4,5			12		15	28		
7. » » .					3,6	7			9		15	31		
8. » » .					0,8	3			7		13	25		
9. » » .					1	10			37		45	76		
10. » » .					0,5									
11. » » .					2	2,2			6		5	10		
12. » » .					1,5	5			20		27	52		

TABLEAU XI — **Greffe de sarcome, ensuit**

	Octobre					Novembre								
	22	24	26	28	30	1er	3	5	7	9	11	13	15	17
	23		27		31		4		10					
Greffes de sarcome.	Injections		Injections		Injections		Injections		Injections		Injections			
1.....					1,3	1,8			6		10	12		
2.....					1,3	3,6			7,5		12	21		
3.....					1,3	1,6			1,5		1,5	Ulcér.		
4.....					1,5	3,6			15		18	31		
5.....					0,7	1,8			9		15	28		
6.....					0,8	1			2		4,5	15		
7.....					1.2	2.5			6		9	11		
8.....					4,5	7			18		24	32		

TABLEAU XII — **Greffe de sarcom**

	Octobre					Novembre								
	22	24	26	28	30	1er	3	5	7	9	11	13	15	17
Greffes de sarcome.														
1.....					2,2	4			9				1	
2.....					29	10			30				42	
3.....					3,9	8			12				18	
4.....					1	4			9				40	
5.....					4,5	8			9				21	
6.....					1.8				15				38	

jections de toxines streptococciques.

						Décembre											
19	21	23	25	27	29	1er	3	5	7	9	11	13	15	17	19	21	23
50	+																
38	14		+														
32	35		42	Ulcér.			50			13				6		+	
54	+																
37	+																
57	88		108				+										
33	53		+														
71	71		+														
+																	
33	22		20				15		+								
51	+																

ections de toxines streptococciques.

						Décembre											
9	21	23	25	27	29	1er	3	5	7	9	11	13	15	17	19	21	23
6	+																
2		49	+														
		+															
0		42				54					+						
+																	
0		31				55						40			+		
0		12		+													
6		62		82			121					+					

de témoins.

						Décembre											
0	21	23	25	27	29	1er	3	5	7	9	11	13	15	17	19	21	23
5																	ø
	+																
			Ulcér.		7			0,5									ø
	77	+															
	54		+														

TROISIÈME SÉRIE

Comme on peut voir dans les tableaux X, XI et XII, le traitement aux toxines, administrées après avoir greffé l'animal avec la tumeur, n'augmente pas le nombre des guérisons, mais, au contraire, la mortalité est plus grande que chez les témoins. Donc l'administration des toxines streptococciques et gonococciques, pendant l'évolution de la tumeur de greffe, a un effet plutôt excitant sur le développement de celles-ci.

Voici les pourcentages des prises chez les animaux ainsi traités :

TROISIÈME SÉRIE D'EXPÉRIENCES

Rats (%)	Toxines streptococciques		Toxines gonococciques	Témoins
	filtrées	chauffées		
Ont fait des tumeurs.....	100	85,7	86	100
Sont morts avec tumeurs	100	85,7	86	66,6
N'ont pas fait des tumeurs...	0	14,3	16	0
Guéris.....	0	0	0	33,6

CONCLUSIONS

En publiant ces expériences préliminaires, nous nous abstenons de donner une explication quant au mécanisme des phénomènes observés, bien que le rôle de l'afflux leucocytaire y semble être prépondérant. Il résulte cependant, déjà, que les toxines streptococciques et gonococciques injectées chez l'animal confèrent à celui-ci une résistance envers la tumeur greffée ultérieurement. Cet effet ne s'observe pas si les injections se font après la greffe de la tumeur; en ce cas, la mortalité à la suite de la tumeur est plus grande que chez les animaux témoins.

Le bouillon administré en injections préalables augmente par lui-même la mortalité parmi les animaux greffés.

L'augmentation de la résistance du terrain vis-à-vis de la tumeur par ces procédés est assurément non spécifique, mais cependant réelle. Nous poursuivons ces recherches en employant divers antigènes streptococciques, ainsi que l'anatoxine respective.

SUR LES RELATIONS ENTRE LA LYMPHO-GRANULOMATOSE MALIGNE ET LA TUBERCULOSE

par

E. C. CRACIUN, Ion GASPAR et Alexandre URSU

(Travail de l'Institut Cantacuzino)

Le problème étiologique du lympho-granulome malin n'a pas reçu de solution satisfaisante malgré les minutieuses recherches déjà effectuées. Nombreuses furent les hypothèses et les directions suivies depuis les études fondamentales de Paltauf et de Sternberg. En accusant une genèse infectieuse, et notamment tuberculeuse, ces auteurs ont ouvert un débat, lequel s'est montré ensuite particulièrement tenace et dont la solution paraît encore lointaine.

Une revue détaillée de la littérature dépasserait de beaucoup le cadre de ce travail; quelques rappels sont cependant inévitables.

Considérons d'abord l'hypothèse de l'*origine infectieuse*.

Presque tous les auteurs, ainsi qu'Eugène Fraenkel, admettent que le lympho-granulome est une maladie infectieuse. Ceci est rendu vraisemblable par le tableau clinique et par celui des lésions. Différents auteurs, dont Rimbaud, Faure, ont invoqué l'unité du type des lésions, dans toutes leurs localisations, en faveur de l'étiologie infectieuse.

Cependant l'opinion contraire n'a pas manqué de se manifester. Yamasaki, un élève de Chiari, admet une nature tumorale ; St. Klein veut ranger le lympho-granulome parmi les maladies lymphatiques systématisées. En ce sens plaident, évidemment, certaines particularités cliniques et biologiques qui distinguent le lympho-granulome d'avec les granulomes infectieux proprement dits, à l'étiologie connue. Mais il est difficile de suivre Tsunoda lorsqu'il affirme concevoir cette maladie comme une tumeur lymphatique primitive, généralisée par voie de métastases. Le contraire plutôt paraît vrai, et c'est là un fait primordial, pour le

lympho-granulome malin, que les différentes localisations ne présentent jamais le caractère de métastases, au sens où ce terme est employé pour les tumeurs malignes. Weissman, Netter, Lubarsch, sont inclinés à admettre une entité nosologique à part, qu'il est difficile de préciser, entre la tuberculose et les néoplasies.

Quant à la *nature de cette infection, différents germes* furent mis en cause (en dehors du bacille de Koch) par Benda, par Pick, pour le staphylocoque; par Mosler, pour la lèpre; par Fabian, pour la syphilis; par Bunting et Yates, Torrey, Bloomfield, pour des diphtéroïdes; par Kuczynski et Hauck, pour un actynomyces; par de Negri et Mieremet, par Verploegh, Kehrer et Hoogenhuyze, etc. Les preuves cruciales requises en bactériologie ne furent réalisées pour aucun des germes incriminés. Mais le fait d'avoir pu isoler, à partir de lympho-granulome, tant de germes et si variés, doit certainement mettre en garde et montrer les difficultés toutes particulières que les recherches bactériologiques doivent résoudre en ce qui concerne le granulome de Hodgkin. Il est étrange cependant que les cas aigus furent tout aussi peu conclusifs que les cas chroniques.

Autrement important est l'ensemble des travaux étudiant les relations causales possibles avec la tuberculose. On doit peut-être penser que cette hypothèse a été plus féconde en travaux qu'en résultats.

Il serait instructif de suivre, dans une étude critique, le flux et le reflux des opinions manifestées à cet égard, — ce qui souligne encore une fois les difficultés de la tâche.

L'*étiologie tuberculeuse,* affirmée par Paltauf et par Sternberg, confirmée par d'autres auteurs, a pour elle des arguments impressionnants. Coexistence des lésions tuberculeuses (dans 20 % des cas, bacilles présents dans 12 % des cas, tuberculose milliaire finale fréquente, d'après H. Ziegler. « La tuberculose suit comme une ombre. » (Ewing.) Pourtant cette hypothèse fut battue en brèche par des objections de toute première importance : comment mettre d'accord l'absence de bacilles, les inoculations négatives et les différences histologiques avec les modalités connues, typiques ou atypiques de l'infection bacillaire ? Kaufmann constate qu'il est impossible d'éviter une contamination accidentelle avec la tuberculose, tout en reconnaissant qu'il est parfois très difficile de mettre en évidence les bacilles de Koch dans une lésion tuberculeuse. Même ceux qui sont favorables à l'hypothèse de l'infection bacillaire — comme Ewing — reconnaissent l'importance capitale de ces objections. D'ailleurs, Sternberg a fini par

admettre l'existence d'un lympho-granulome non tuberculeux, et Paltauf s'est rallié aux défenseurs de la nature cryptogénétique de cette maladie.

L'inconstance des résultats positifs pour la tuberculose est telle que Lubarsch, en faisant le point de la question, a pu dire qu'il est prématuré d'examiner les relations causales entre la tubercu-

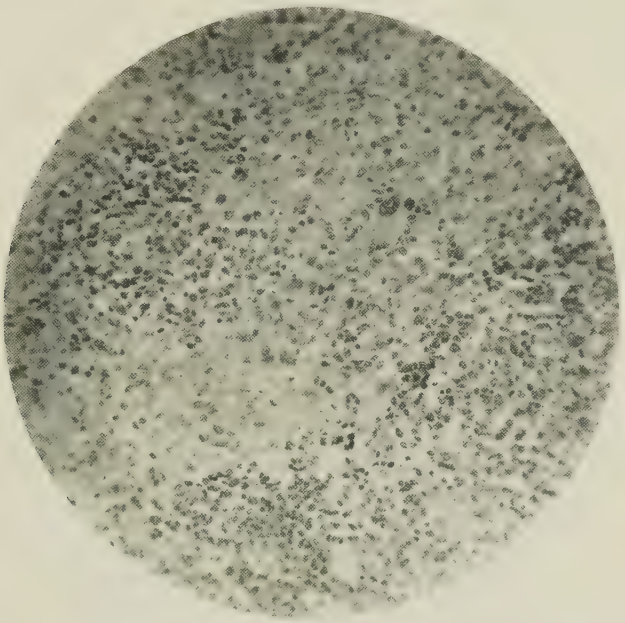


Fig. 1. — I^er^ cas, I^er^ passage, cobaye n° 52. — Effacement de l'architecture lymphadénoïde, polymorphie cellulaire assez marquée. En l'absence d'un vrai tissu de granulation, on trouve des lymphocytes et leurs dérivés inflammatoires, des formes histioïdes et épithélioïdes, quelques cellules plus hypertrophiées, sans cellules de Sternberg. L'hyperplasie se fait surtout en nappes et cordons, disloquant les amas lymphocytaires. Légère hyperhémie et leucocytose.

lose et le lympho-granulome, et qu'il n'y a même pas de probabilités suffisantes en ce sens.

Un renouveau d'intérêt fut apporté avec la découverte des bacilles granulaires au niveau des lésions lympho-granulomateuses, découverte due à Fraenkel et Much, confirmée par O. Mayer, Jacobstahl, Simmonds, Hirschfeld, de Yong; par Beumelburg et par Kusunoki (Institut de Kaufmann). Ces bacilles granulaires résistent à l'antiformine, ne résistent pas à la décolo-

ration par les acides, se colorent par le Gram renforcé. Il faut les distinguer des simples granulations libres, résistant également à l'antiformine, colorables par le même procédé de Gram renforcé; Fraenkel et Much, Ewing, ne leur accordent aucun intérêt étiologique. De plus, Fraenkel lui-même insiste qu'il faut faire des réserves sur la nature et les parentés du bacille granulaire.

Le rôle étiologique du bacille de type bovin, affirmé par Sticker, Löwenstein, Steyer, n'a pas été confirmé.

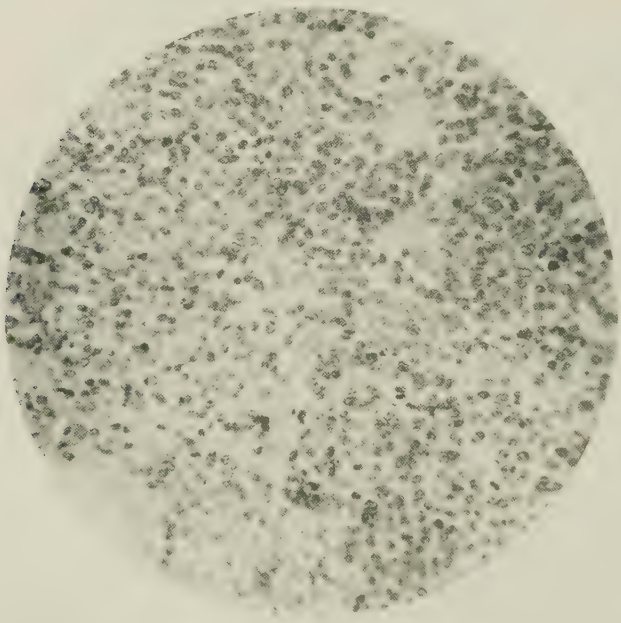


Fig. 2. — Même cas, III[e] passage, cobaye n° 190. — Réaction moins forte : les formes lymphocytaires reprennent le dessus. Sont moins apparentes l'hyperplasie et l'isolement des cellules réticulaires. Réaction leucocytaire et vasculaire presque nulle.

Quant au virus filtrable, l'hypothèse de son existence n'a été nullement secourable dans ce cas.

Les inoculations aux singes ont été négatives entre les mains de Longcope et de Ewing.

Quant à la *reproduction expérimentale des lésions* lymphogranulomateuses, un seul résultat entièrement positif a été inscrit au tableau par Lichtenstein, sans aucune confirmation. Cependant, il faut rappeler que E. Fraenkel a pu obtenir chez le cobaye,

trois mois après l'inoculation, des lésions bacillaires et, en même temps, des lésions particulières, atypiques par rapport à la tuberculose.

Il est significatif que, dans le domaine tellement fouillé de la tuberculose expérimentale, aucun auteur n'ait jamais rencontré des lésions du type lympho-granulomateux, — même en faisant la part des réactions hyperallergiques, invoquées par Fraenkel.

Même absence de reproduction expérimentale par les autres germes isolés, cultivés et incriminés comme agents spécifiques.

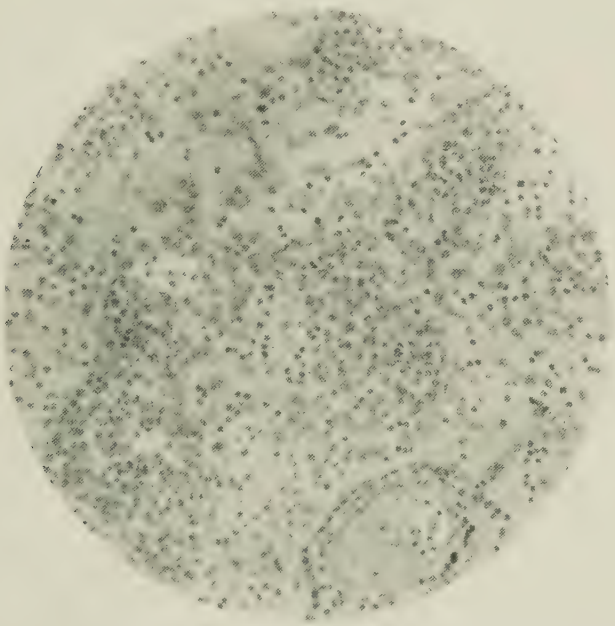


Fig. 3. — Même cas, I^er^ passage, cynomologue. — Forte réaction catarrhale dans le sinus périphérique d'un ganglion lymphatique régional, près du hile.

⁂

De toute évidence, les résultats positifs pour la tuberculose constituent un fait indéniable, — ainsi que les constatations similaires pour les bacilles granulaires. Mais la présence des germes, même si elle était moins rare, ne saurait constituer, à elle seule, un argument péremptoire.

En ce qui concerne les résultats bactériologiques positifs.

autres que pour la tuberculose, les germes, qui firent l'objet de constatations pratiquement isolées, doivent attendre une confirmation plus régulière. Leur présence montre que ce tissu lymphogranulomateux peut héberger des germes variables sans aucune modification secondaire de son histologie.

Tous ces résultats positifs pour le bacille de Koch ou pour d'autres germes posent d'abord le *problème du microbisme latent*, d'autant plus vraisemblable qu'il s'agit justement du tissu lym-

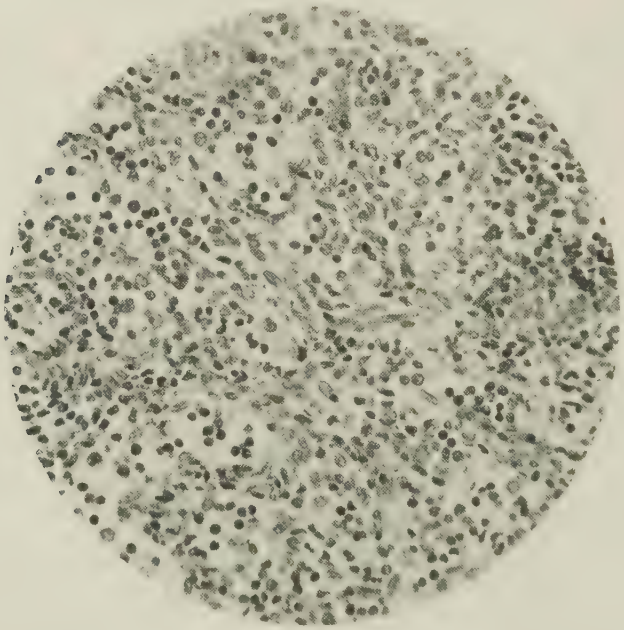


Fig. 4. — IIe cas, IIe passage, cobaye n° 180. — Réaction réticulaire et réticulo-endothéliale de moyenne intensité, avec architecture conservée

phatique. Ceci est d'accord avec les faits observés par Weichselbaum, Bartel, Kälbe, Mac Fadyean et Harbitz. Ces auteurs ont pu obtenir la tuberculisation des cobayes inoculés avec des ganglions prélevés sur des enfants ayant succombé à la scarlatine et à la rougeole.

La *tuberculisation secondaire* des lésions lympho-granulomateuses est également possible, d'accord avec Ceelen et Lydia Rabinowistch.

Nous pensons que cette tuberculisation secondaire est d'au-

tant plus vraisemblable que le lympho-granulome, par sa localisation ganglionnaire, peut réveiller, réactiver des lésions bacillaires latentes.

Il ne faut pas perdre de vue non plus que la maladie de Hodgkin-Sternberg-Paltauf amène une cachexie plus ou moins rapide, ce qui favorise d'autant la *tuberculisation finale.*

Il est certainement curieux de constater que ni la période fébrile du lympho-granulome, ni les cas aigus, ne paraissent pas don-

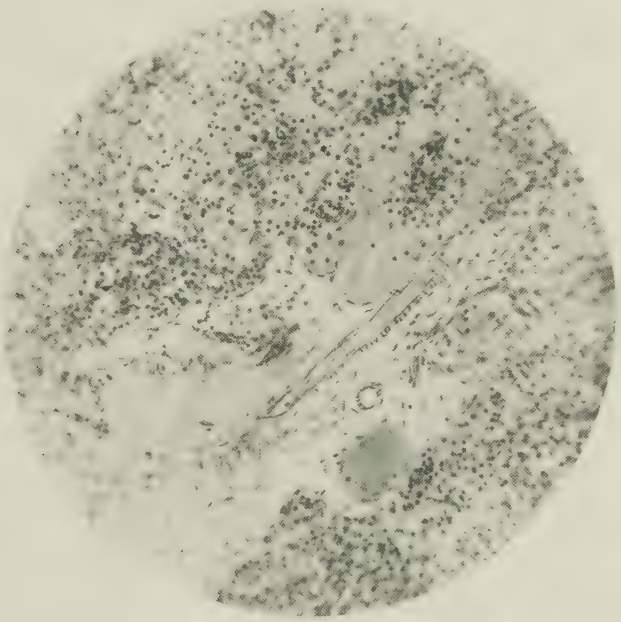


Fig. 5. — III[e] cas, I[er] passage, cobaye 65/15. — Réaction périganglionnaire ; stase lymphatique et infiltration lympho-leucocytaire.

ner des inoculations positives plus fréquentes que les cas avec évolution plus calme.

⁂

Problème de travail. — Même si les réserves énoncées par Lubarsch paraissent justifiées, il n'est pas moins nécessaire de vouloir préciser quelles peuvent être les relations entre le lympho-granulome et la tuberculose, s'il s'agit de relations causales

ou de simples coïncidences, ou bien d'une action favorisante, et dans quel sens. Le dernier mot est loin d'avoir été dit à ce sujet. D'autre part, la marche des expériences faites ne paraît pas toujours à l'abri de tout reproche. Enfin, dans le domaine de la tuberculose, les nouvelles acquisitions de méthode et de technique posent à nouveau, dans des conditions plus ou moins différentes, le même problème expérimental.

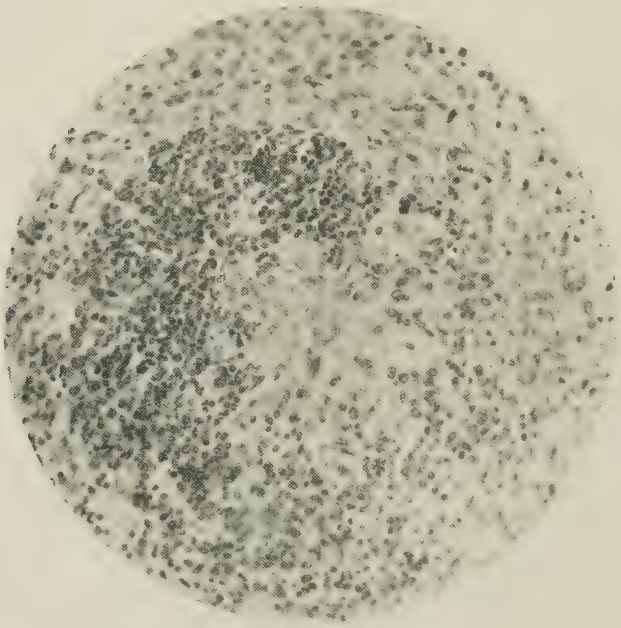


Fig. 6. — Même cas, IIe passage, cobaye 140. — Dans un follicule et tout autour, hyperplasie réticulaire en nappe continue, sans isolement. La topographie de la lésion simule un nodule tuberculeux épithélioïde, mais l'identité des formes cellulaires à l'intérieur et en dehors du follicule, ainsi que leur continuité sur cette coupe et les coupes suivantes, montre la nature simplement irritative de cette lésion.

Il est certainement difficile d'instituer, pour cette question, des expériences défiant toute critique et toute possibilité d'erreur. Un grand nombre des études précitées furent basées sur un nombre trop limité d'inoculations, et les cobayes ne furent sacrifiés qu'après plusieurs mois. Dans ces conditions, il y a double possibilité d'erreur, d'abord dans le sens négatif, — si le matériel inoculé est pauvre en germes ou si le nombre des animaux ino-

culés est trop parcimonieux; et ensuite dans le sens positif, car une longue survie favorise d'autant l'infection accidentelle, dite spontanée, du cobaye.

Nous (E. C... et A. U...) avons eu l'occasion d'étudier la tuberculose spontanée du cobaye apparue dans un élevage sous forme d'une épizootie assez virulente due à la tuberculose fibreuse, très torpide, du gardien de l'élevage. L'épizootie a duré un certain

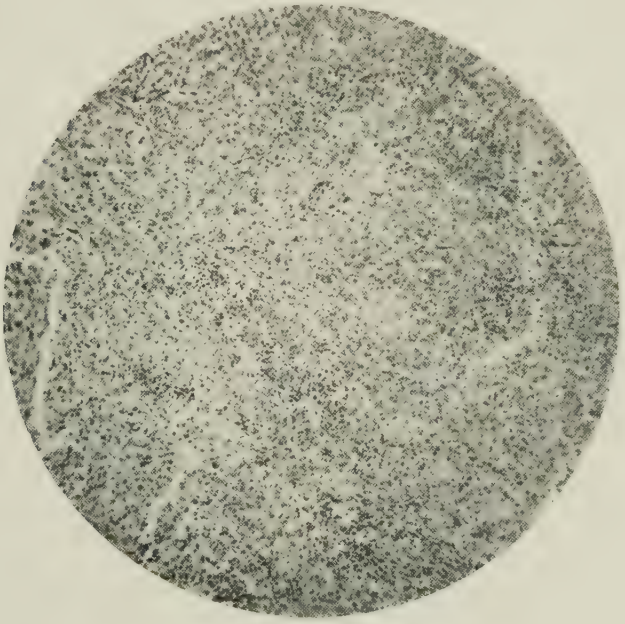


Fig. 7. — Même cas, IIe passage, cobaye n° 140. — Centre d'un ganglion lymphatique : effacement des cordons par réaction réticulaire et réticulo-endothéliale.

nombre de mois; en dehors de périodes particulièrement meurtrières, des cas sporadiques ont apparu, même après avoir éloigné tout contact possible. Est-il possible d'éliminer tout à fait pareille possibilité des cas sporadiques avec des cobayes achetés sur le marché ? et même dans les élevages dont les conditions ne sont pas rigoureusement hygiéniques ?

D'ailleurs, l'identification des différentes variétés du bacille tuberculeux demande de nouvelles recherches.

Enfin, la question du virus tuberculeux filtrable et des formes

bacillaires non acido-résistantes a été abordée par les recherches de différents auteurs, dont Arloing, Dufourt et Malatre, Titu Vasiliu et Iriminoiu, Sabrazès, Le Chuiton et Mauze, Faure-Beaulieu et M[lle] Brun, ce qui constitue un nouveau problème.

RECHERCHES EXPÉRIMENTALES

Pour ces raisons, nous avons cru nécessaire d'entreprendre de nouvelles recherches sur les relations possibles entre le granu-

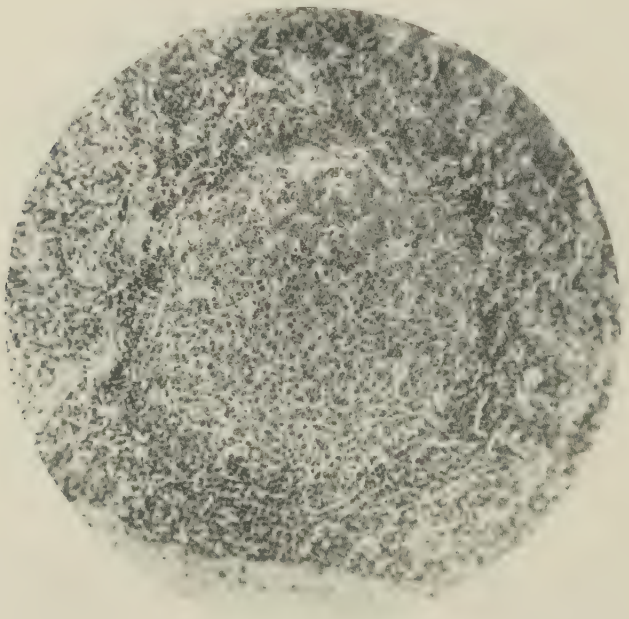


Fig. 8. — Même cas, III[e] passage, cobaye n° 111. — Réaction limitée au follicule : clarification centrale, carrelage tracé par les cordons de cellules réticulaires et macrophages.

lome de Hodgkin et la tuberculose ayant un *double but* : *la bactériologie et l'histologie des passages*, aussi amplement que faire se peut, dans les conditions généreusement et largement offertes par la direction de l'Institut.

L'aspect clinique, l'évolution, l'histologie et l'histogénèse chez différentes espèces sensibles présentent une égale importance.

Le côté bactériologique de la question réclame encore, à notre avis, des recherches étendues, puisque le plus difficile à résoudre par des conclusions purement négatives.

Tout d'abord, il y a la question de l'espèce sensible, et ensuite la question de la quantité et de la qualité des germes. On a eu recours, le plus souvent et presque exclusivement, au cobaye comme réactif sensible. Mais il ne faut pas négliger les inoculations au lapin, à la poule et au singe.

Et enfin, la question de l'abondance des animaux inoculés.

Il nous a paru qu'il ne faut pas se contenter des inoculations faites à un petit nombre d'animaux, laissés en longue survie, sans passages.

Il faut donc pratiquer des inoculations nombreuses, poursuivies pendant plusieurs passages, sur plusieurs espèces supposées sensibles, à partir d'un matériel minutieusement étudié, comme bactériologie et histologie. Il faut faire état minutieusement des résultats histologiques chez tous les animaux inoculés, afin de mieux établir la réponse à une infection présumée par l'une ou l'autre des races du bacille de Koch. Les observations de Fraenkel sont particulièrement suggestives à cet égard.

Le lympho-granulome malin n'est pas une affection très fréquente dans les services hospitaliers de Bucarest. Tandis qu'à Cluj, Titu Vasiliu a pu rassembler facilement cinquante-deux cas de 1920 à 1925, — à Bucarest, avec toute la bonne volonté des chefs de service, — auxquels nous adressons encore une fois l'expression de notre gratitude, — il nous a été impossible d'en étudier un aussi grand nombre. *Les cas non traités, nettement libres de tout antécédent bacillaire*, — aptes pour les recherches étiologiques, — furent encore plus rares.

Nous avons pu employer, pour les inoculations : 107 cobayes, 10 lapins, 10 poules et 4 singes. Les passages ont été poursuivis aussi longtemps que possible. Enfin, bactérioscopie et cultures ont été largement employées pour le matériel initial et le matériel de chaque passage. L'autopsie complète de chaque animal nous a permis de prélever de nombreux fragments des différents viscères et des ganglions lymphatiques superficiels ou profonds.

Pour les INOCULATIONS et les PASSAGES EN SÉRIE, nous avons adopté la méthode suivante : *l'autopsie complète* de chaque animal inoculé est faite avec prélèvement de différents organes; des *frottis ganglionnaires et spléniques* sont colorés et examinés pour le bacille de Koch et pour d'autres germes (Ziehl, Fontès, Gram, bleu de méthylène); des cultures sur bouillon, gélose, sérum coa-

gulé, gélose glycosée et gélose ascite sont faites avec du sang cardiaque; des *cultures sur Löwenstein,* avec du broyage de ganglions et, dans les cas suspects, avec du broyage de rate et de foie. Les *inoculations* furent pratiquées par voie sous-cutanée ou intra-péritonéale.

Résultats obtenus. — Les cobayes faisaient une réaction fébrile apparaissant dès le troisième jour, durant deux à quatre jours et ne dépassant pas + 3°.

Pendant la durée des expériences, l'élevage de l'Institut a été indemne de toute épizootie.

Vu le grand nombre des animaux en expérience, nous n'avons pu les garder dans des cages isolées. Tous les cobayes survivants ont été sacrifiés à la fin de l'expérience; leur examen, *tout* aussi minutieux, n'a *jamais montré de tuberculose.*

Nous *insistons sur les résultats négatifs comme tuberculose chez les cobayes à* LONGUE SURVIE, sacrifiés de 60 à 90 jours après l'inoculation. Cette longue survie a été la règle pour les lapins et les poules, avec bactérioscopie et histologie constamment négatives; pour les cobayes, la survie fut variable à dessein.

Nous avons pu rassembler quatre cas pendant une année. Pour leur étude tant bactériologique qu'histologique, nous n'avons ménagé ni le temps, ni le matériel, ni nos efforts parallèles, — et nous serons à même d'en tirer des conclusions bien définies.

PREMIER CAS. — Iosef Ta..., vingt et un ans, reçu à l'Hôpital militaire « R. E. », le 15 septembre 1934, pour débilité, fièvre et adénopathie généralisée.

Antécédents nuls. Constitution débile, thorax squelettique; sous-matité à la base droite, râles disséminés. Rate percutable, foie et cœur normaux. Pyodermite. Les ganglions inguinaux, axillaires, cervicaux, sternaux, sont agrandis, isolés, mobiles, assez durs. A l'écran, adénopathie hilaire bilatérale, fine obscurité des deux sommets. Fièvre continue d'abord, intermittente ensuite.

Hémogrammes. — Le 24 septembre 1934 : N=93 %; Mo=6 %; Ly = 1 %. *Le 10 octobre* : R = 3.600.000; Hb = 60 % (Sahli); Vg_3=0,8; Bl=32.080, dont N=93 %; Mo=5 %; Ly=2 %. Hémoculture négative *(19 octobre)*; pas de bacille Koch *(10 novembre* et *6 octobre)*; réaction de Frey négative *(19 octobre)*.

Röntgenothérapie instituée le *6 novembre.*

Biopsie axillaire droite *(2 novembre)* : lympho-granulomatose maligne avec vigoureux tissu de granulation diffus ou cloisonné. Les éléments réticulaires prédominent partout, variables comme

taille, basophilie, nombre des noyaux volumineux et clairs. Cellules géantes de type : (a) Langhans, (b) myéloplaxe et (c) symplasmes réticulaires; ces derniers sont souvent reliés avec les éléments réticulaires du tissu granulomateux. Tout le tissu adénoïde a été remplacé ou remanié par la néoplasie. Pas de nécrose.

Bacille de Koch absent des frottis et cultures. Les inoculations seront examinées plus loin.

L'état général du malade décline rapidement. Sur les pièces *d'autopsie*, pratiquée le 3 mars 1935, on trouve de plus une *tuberculose milliaire généralisée.*

Les ganglions auriculaires montrent une infiltration épithélioïde diffuse, une tendance fibropare, avec caséification incipiente. Dans *le foie* prédominent les tubercules nécrotiques avec abondantes cellules géantes; sclérose péri-portale discrète, infiltration nodulaire intra ou péri-lobulaire, stase sus-hépatique.

Dans *la rate* : rares nodules lympho-granulomateux où prédominent encore les cellules réticulaires hypertrophiées et hyperplasiées.

Dans les reins, légères lésions épithéliales : intumescence et desquamation.

INOCULATIONS ET PASSAGES EN SÉRIE

PREMIER CAS

Une partie du ganglion lymphatique extirpé pour biopsie, le 2 novembre 1934, fut gardé pour l'inoculation au cobaye 184. Des inoculations en série ont été effectuées selon le schéma ci-joint, à 53 cobayes, 4 lapins, 4 poules et 1 singe.

Afin d'éviter les répétitions, nous allons résumer en même temps la bactérioscopie et l'histoscopie de tout ce matériel, sous formes de tableaux résumatifs.

Cobayes. — *I*^{er} *passage.* — Aucun résultat positif de tuberculose.

Lésions des ganglions lymphatiques : hypertrophie des groupes superficiels et profonds.

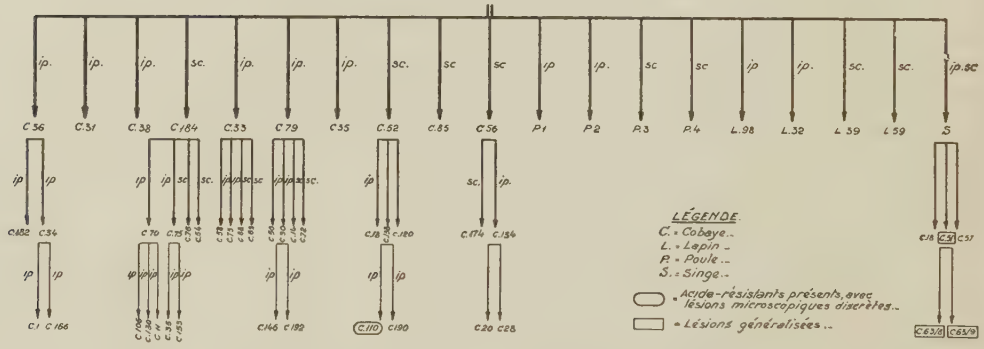
Pas de bacille de Koch, ni d'autres germes sur les frottis ganglionnaires; cultures stériles.

Sur coupes histologiques : stase dans les sinus lymphatiques

centraux, avec desquamation et légère infiltration à pseudo-éosinophiles. Follicules lymphatiques agrandis et clarifiés; la plupart est constituée par de grandes cellules réticulaires, lymphoblastiques et histioïdes, tandis que les petits lymphocytes forment à peine quelques rangées périphériques. Quelques rares cellules réticulaires ont acquis une fonction macrophagique. Rares mitoses; pas de cellules géantes, pycnose fréquente. Même lorsque la réaction devient plus vive (C. 70, C. 75), l'adéno-sinusite catarrhale desquamative est fortement apparente avec une forte participation des sinus centraux hilaires; l'hyperémie y est égale-

PREMIER CAS

(T. I. Biopsie, 1er-2-16 novembre 1934.)


ip. ip. ip. sc. ip. ip. ip. sc. sc sc ip ip. sc sc ip ip. sc. sc. ip.sc
C 36 C.51 C.38 C.184 C.33 C 79 C.55 C.52 C.85 C.56 P.1 P.2 P.3 P.4 L.98 L.32 L 59 L 59 S
LÉGENDE
C. = Cobaye..
L. = Lapin ..
P. = Poule ..
S. = Singe..
= Acido-résistants présents, avec lésions microscopiques discrètes..
= Lésions généralisées..

ment la plus marquée. En même temps, périadénite avec infiltration lympho-histiocytaire et rares micro-abcès; au centre, fragments pycnotiques, entourés de grands éléments clairs.

La rate : augmentation de deux à six fois le volume normal, forte hyperplasie des cellules réticulaires dans les cordons et les follicules fortement clarifiés; macrophagocytose et pycnose. Dans certains follicules agrandis, entre le centre clair et le manteau lymphocytaire aminci, il y a une zone intermédiaire composée surtout de lymphoblastes et de grosses cellules réticulaires.

Hyperhémie aussi variable que l'afflux des pseudo-éosinophiles.

Dans *le foie,* aucune réaction des cellules de Kupffer; quelques infiltrations lympho-hystiocytaires périportales, peu importantes. Cellules épithéliales parfois clarifiées, avec un noyau en voie de lyse; d'autres fois, noyau plutôt hyperchromique et cytoplasme très grenu. Un certain degré d'intumescence va de pair avec l'ischémie.

Les reins, le cœur, les surrénales, le pancréas, la thyroïde, l'intestin, les muscles striés : pas de lésions appréciables. Seuls *les poumons* montrent parfois des lésions nodulaires ou interstitielles chroniques, ou bien des petits foyers de broncho-pneumonie aiguë ou chronique organisée, assez fréquents chez les petits animaux de laboratoire. Parfois clarification des nodules lymphatiques périvasculaires et péri-bronchiques.

Dans la *moelle osseuse,* hyperplasie diffuse avec de grandes formes réticulaires et histiocytaires, éléments myéloïdes jeunes; myéloplaxes en proportion normale.

*II*e *passage* (15 novembre 1934). — *I. p.* : C. 70, C. 75; *s. c.* : C. 54, C. 76; légère réaction fébrile le troisième et le quatrième jour. Bactérioscopie négative. Comme histologie : plus grande abondance et étendue des micro-abcès; périadénite (+ C. 70, 10 décembre 1934).

*III*e *passage* (10 décembre 1934). — *I. p.* : C. 35, C. 106, C. 130, C. 153, C. 11.

Une escarre au niveau de l'inoculation : micro-abcès dans les ganglions mésentériques; quelques nodules blancs sur le foie (C. 130, + 10 janvier 1935). Petits abcès d'aspect caséeux sans bacille de Koch (C. 35, + 7 janvier 1935). Nodule blanc dans le foie, amicrobien (C. 106, + 26 juillet 1935).

*IV*e *passage* (26 juillet 1935). — C. 47 et C. 147 : simple hyperplasie ganglionnaire.

Autre série d'inoculations pour le premier cas.

*I*er *passage* (16 novembre 1934). — C. 33, C. 35, C. 79 *(i. p.)* et C. 52, C. 56, C. 85 *(s. c.)*, avec broyage de ganglion; C. 31, C. 36, C. 38, avec *filtrat* de ce même broyage, inoculé également aux lapins : L. 32, 98 *(i. p.)* et L. 39, 59 *(s. c.)* : néant.

Deux poules : P. 1, P. 2 *(i. p.)* + 3 janvier 1935 et 20 avril 1935 = O; P. 3 et P. 4 *(s. c.)* + 7 février 1935 = néant.

Chez les cobayes : même hypertrophie ganglionnaire, avec une certaine abondance des plasmocytes et des pseudo-éosinophiles; de même dans la rate; une assez abondante infiltration lymphohistiocytaire dans les interstices rénaux. Manchons périvasculaires de composition analogue dans le poumon, légère réticulose des ganglions péribronchiques.

*II*e *passage, A* (2 décembre 1934). — *S. c.* : C. 14, C. 72, C. 88, C. 63; *i, p.* : C. 50, C. 30, C. 58, C. 75. Pas de lésions à retenir,

excepté pour C. 30 (+ 20 décembre 1934), lequel présente une hyperplasie avec polymorphie des cellules réticulaires et réticulo-endothéliales. Assez fréquentes mitoses, allant même jusqu'à la formation de noyaux de grande taille.

II^e passage, B. — *I. p.* : C. 18, C. 138, 134, 174; *s. c.* : 120.

Chez C. 138 : dans les ganglions lymphatiques, la prolifération réticulaire est si forte que les cordons lymphatiques sont bouleversés et interrompus,

Chez C. 134: *micro-abcès ganglionnaires* avec réaction histioïde.

Dans les poumons, il y a une assez forte réaction périvasculaire et ganglionnaire de type histio-lymphocytaire, mais cette réaction pourrait être sous la dépendance des lésions d'alvéolite et péri-alvéolite coexistantes.

Foyer de *nécrose hépatique,* amicrobien.

III^e passage, A (de C. 30). — *I. p.* : C. 146 et C. 192, avec micro-abcès dans les ganglions mésentériques.

III^e passage, B (de C. 138). — *I. p.* : C. 190, C. 110, et (de C. 134) C. 28, C. 20. Bactérioscopie négative, excepté pour C. 110, chez lequel, après de patientes recherches, un *seul bacille acido-résistant indiscutable* fut trouvé sur les *frottis ganglionnaires.*

Lésions diffuses et nodulaires, lesquelles contiennent aussi des nodules giganto-cellulaires et nécrotiques. Dans les poumons, alvéolite avec formations syncytiales, nodules lympho-épithélioïdes interstitiels.

IV^e passage (de C. 110). — *I. p.* : C. 18, C. 31; *i. p.* et *s. c.* : C. 120 et C. 13. On trouve *des acido-résistants sur frottis* chez C. 31, mais sans cultures positives et sans autres passages positifs (C. 178, C. 175, *V^e pasage*).

Les cobayes inoculés avec *de filtrat* du broyage ganglionnaire *s. c.* et *i. p.* : C. 36, C. 31 et C. 38 : pas de lésions à retenir.

II^e passage : *i. p.* : C. 182, C. 34 : même état.

III^e passage : *i. p.* : C. 1, C. 166. Ce dernier montre des abcès épiploïques, mais sans bacille de Koch.

Pour le premier cas, *un singe* cynomologue a été inoculé par voie intra-péritonéale et intra-cranienne, et sacrifié le 27 novembre, après vingt-cinq jours. Bactérioscopie et clutures négatives. Pas de lésions notables dans les ganglions lymphatiques, excepté une légère réaction desquamative dans les sinus. Pas de lésions pulmonaires ni de réaction adénoïde régionale. Hyperhémie et hyperleucocytose dans le foie. Métaplasie rouge de la moelle osseuse, avec prédominance myéloïde, nombreuses mitoses et fréquents myéloplaxes. Pas de lésions rénales. Ce singe a fait ensuite une

méningite bacillaire. Le broyage des ganglions mésentériques, de la rate et du foie s'est montré virulent.

Dans le premier passage, sur trois cobayes, seul C. 51 *(i. p.)* présente *une tuberculose généralisée,* avec lésions folliculaires, laquelle est transmise en série à deux autres cobayes (C. 63/8 et C. 63/9). Cultures positives, avec macrocolonies de bacille de Koch sur Loewenstein. Cette souche, conservée au laboratoire, a été identifiée comme appartenant au type humain.

Les *lapins,* inoculés par voie sous-cutanée ou intra-péritonéale, n'ont jamais montré de bactérioscopie positive, ni en cultures. Quant aux lésions, la réaction du tissu lymphatique, splénique et hépatique est restée dans des limites encore plus discrètes que pour les cobayes.

Les *poules,* inoculées par voie sous-cutanée, ne montrent pas de réaction caractéristique.

Dans *la rate,* légère hyperplasie de la pulpe blanche, hyperhémie de la pulpe rouge, laquelle contient de nombreuses cellules à pigment brun. Dans *le foie,* hyperhémie et hyperleucocytose.

Pas de lésions dans le cœur et le rein.

Bactérioscopie constamment négative, ce qui est d'autant plus intéressant que, dans tous les cas, il y a eu une longue survie de 90 à 150 jours.

Pour chacun de nos cas, deux poules furent inoculées par voie intra-péritonéale, sans aucune réaction notable.

⁂

DEUXIÈME CAS

Le malade Vir. Grid..., quarante et un ans, est reçu à l'Hôpital Brancovan, le 15 janvier 1935, pour douleurs généralisées, prurit, fièvre vespérale.

Comme antécédents, diphtérie à seize ans; plus tard, urétrite avec orchite double; pendant la guerre, fièvre récurrente et une affection respiratoire avec crachats hémoptoïques.

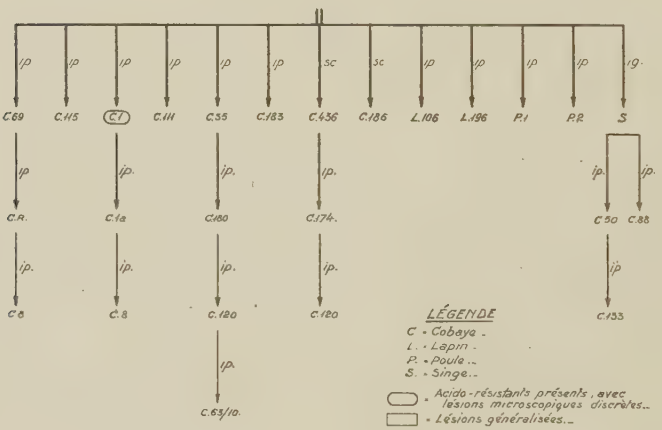
En 1933, début insidieux avec sensation de suffocation toujours plus forte. Le malade est forcé de se présenter à ce même hôpital en avril 1934. La radiothérapie produit de bons effets, et le malade ne ressent aucun trouble pendant cinq mois, mais la suffocation réapparaît avec douleurs dans les lombes et l'hypocondre gauche. Nouveau stage à l'hôpital avec 15 séances de radiothé-

rapie. Deux mois après, nouvelle récidive, cette fois aggravée par l'apparition du prurit et d'une adénopathie inguinale et axillaire gauche. Affaiblissement, anorexie, fièvre modérée, prurit. Rate palpable, douloureuse. Adénopathie iliaque, axillaire et inguinale gauche avec douleurs spontanées et provoquées.

En 1934, dans le sang : R = 4.420.000; Hb = 97 %; Vg = 1,1; Bl = 5.400, dont N = 74 %; E = 3 %; B = 1 %; Ly = 17 %; Mo = 5 %. Le B.-W. négatif. Glycémie à 1,28 ‰.

DEUXIÈME CAS

(G. V. Biopsie, 1er juin 1935.)



Le 17 janvier 1935 : R = 3.520.000; Hb = 64 %; Vg = 0,91; Bl = 10.600, dont N = 83 %, E = 1 %; Mo = 7 %; Ly = 9.

Pas de bacille de Koch dans les crachats.

Le 5 février 1935 : R = 3.450.000 ; Hb = 62 %; Vg = 0,89 ; Bl = 4.900, dont N = 89 %; Ly = 6 %; Mo = 5 %. Anisocytose légère et un normoblaste pour cent leucocytes.

Biopsie le 1er juin 1935 : un ganglion *mammaire externe* présente le tissu polymorphe typique avec éléments lymphoïdes et polyblastes, dont quelques-uns présentent l'aspect clair, épithélioïde. Assez nombreuses cellules géantes, fréquents fibrocytes et capillaires de nouvelle formation. Les leucocytes neutrophiles ou éosinophiles sont assez rares. Les mitoses le sont également, mais fréquente pycnose unicellulaire. Fibrose disséminée. Bactérioscopie entièrement négative sur frottis et cultures.

INOCULATIONS EXPÉRIMENTALES : 24 cobayes, 2 lapins, 2 poules et 1 singe.

I[er] *passage.* — Le broyage ganglionnaire est appliqué par voie péritonéale au C. 69 (1[er] juin + 7 juin 1935). Il en résulte une hypertrophie des ganglions et de la rate, avec bactérioscopie négative. Comme histologie : hyperplasie réticulaire et réticulo-endothéliale, avec desquamation, dans le tissu lymphoïde; hyperhémie dans la rate et le foie; infiltrations lympho-histiocytaires dans le foie et le poumon; pas de lésions appréciables dans le cœur, les reins, le pancréas, les surrénales. Seul C. 1 présente des cellules géantes de type Langhans dans un seul ganglion lymphatique, mais la bactérioscopie, les cultures et les passages sont également négatifs.

II[e] *passage.* — *I. p.* : de C. 35, 7 juin 1935 + 11 juin 1935, dans les ganglions; plus forte réaction réticulaire avec mitoses et infiltration pseudo-éosinophile; macrophagie, desquamation plus marquée dans les sinus marginaux, périadénite assez intense.

Les ganglions bronchiques sont moins atteints. Mêmes lésions du foie, des reins, du poumon, etc., qu'au I[er] passage.

III[e] *passage.* — *I. p.* : de C. 180, 11 juin — 21 juin 1935 : lésions du tissu lymphatique aussi fortes que pour le II[e] passage; ces lésions s'atténuent ensuite et deviennent moins marquées dans les passages suivants.

IV[e] *passage.* — *I. p.* : de C. 120, 21 juin + 1[er] juillet 1935.

V[e] *passage.* — *I. p.* : de C. 63/10, 1[er] juillet + 9 juillet 1935.

Du I[er] passage, par voie *s. c.* : le C. 436/570 (1[er] juin + 10 juin 1935), et ensuite *s. c.* : C. 174/589 (10 juin 1935), dont les ganglions et la rate broyés sont administrés au C. 120/576 sus-indiqué au II[e] passage.

Bactérioscopie constamment négative, lésions discrètes ne dépassant pas une réaction sous-aiguë réticulo-endothéliale, avec peu de participation leucocytaire, dans les ganglions régionaux.

INOCULATIONS AUX LAPINS : *i. p.* : L. 106 et L. 196, avec bactérioscopie et histoscopie sans importance (+ 5 août et 19 septembre 1935).

INOCULATIONS A DEUX POULES, le 19 septembre 1935, avec mêmes résultats négatifs.

Pour le DEUXIÈME CAS, un singe cynomologue inoculé pas voie ganglionnaire dans la région inguinale; une biopsie fut pratiquée sur ce même groupe, douze jours après montrant une architecture

lymphadénoïde conservée, avec une certaine prédominance des grosses cellules réticulaires et lymphocytaires, nombreuses cellules chargées de détritus variés. Rares mitoses, réaction vasculaire nulle, peu de leucocytes polymorphes. Légère desquamation réticulo-endothéliale.

Passages négatifs sur les cobayes : C. 50, C. 88; ensuite C. 133 (+ 19 septembre 1935) = néant.

⁂

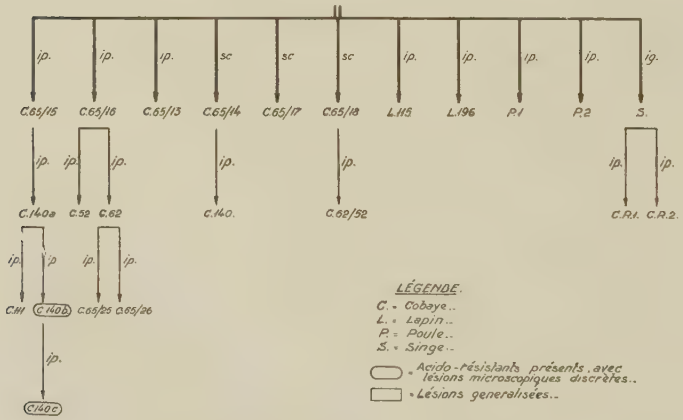
TROISIÈME CAS

Le malade Nicolas Rad... est reçu à l'Hôpital Filantropia, le 3 août 1935.

La biopsie, pratiquée sur un ganglion cervical gauche, le 20 septembre 1935, montre des lésions caractéristiques.

TROISIÈME CAS

(R. N. Biopsie, 20 novembre 1935.)



Inoculations expérimentales : 18 cobayes, 2 lapins, 2 poules, 1 singe.

*I*er *passage.* — Bactérioscopie négative sur frottis et en cultures des inoculations faites d'abord à quatre cobayes : *i. p.* : C. 65/16 (20 septembre + 30 sept. 1935) = bact. néant; histologie : léger catarrhe desquamatif dans les sinus périphériques des ganglions lymphatiques avec hyperplasie réticulaire, sans participation leu-

cocytaire notable. Pas d'autres lésions, excepté pour les reins, où il y a une néphrose sous-aiguë.

a) II^e passage : *s. c.* et *i. p.* : C. 52, C. 62, et le *III^e passage* : C. 65/25 et 65/26, montrent les mêmes lésions.

b) Une autre série de passages, initiée le 20 septembre, du C. 65/14 + 23 septembre, au C. 140 + 10 octobre 1935, mêmes résultats.

c) Des lésions plus intenses apparaissent après l'inoculation *i. p.* chez C.65/15/691 (20 septembre - 23 septembre), dans les ganglions abdominaux profonds, mais il y avait en même temps un bloc de broncho-pneumonie en pleine évolution. Un broyage de ganglions et de rate est inoculé au C. 140 le 10 octobre 1935. Ce cobaye présente de *rares lésions giganto-folliculaires*. De même, le C. 140/*b* (30 octobre + 14 novembre 1935) et C. 140/*c* qui lui fait suite; mais, dans les deux cas, *bactérioscopie négative sur frottis et en culture.*

d) S. c. : C. 65/18 (20 - 30 octobre), ensuite C. 62/52 (30 septembre - 21 octobre) avec état négatif.

Les inoculations aux LAPINS 115, 196 et aux POULES (A) et (B) n'ont permis aucune constatation à retenir.

L'inoculation à un SINGE (20 septembre 1935) fut suivie, deux semaines après, par une biopsie montrant des follicules lymphatiques fortement clarifiés, macrophagie intense dans les sinus notablement distendus par la stase lymphatique et par les éléments réticulo-endothéliaux desquamés. Hyperleucocytose diffuse. L'architecture du tissu adénoïde est de tous points conservée. Il n'y a pas de périadénite.

Une partie du ganglion, broyée, sert à inoculer des cobayes R1 et R2, lesquels survivent du 5 octobre 1935 jusqu'au 3 mars 1936, dans un excellent état de santé. Sacrifiés, ils ne montrent pas de lésions après ces cinq mois; bactérioscopie également négative.

*
**

QUATRIÈME CAS

Le malade Alexandre Nicol..., vingt-sept ans, reçu le 29 octobre 1935 à l'Hôpital « Dr. I. Cantacuzino », pour adénopathies multiples fébriles.

Comme antécédents : paludisme à quinze ans; attaques épileptiformes.

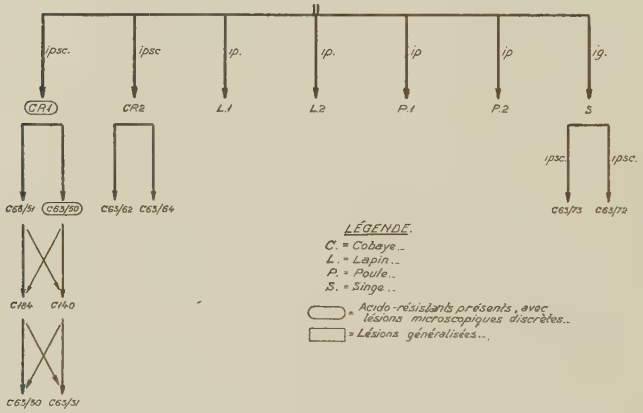
La maladie a débuté, il y a onze mois, par une adénopathie cervicale d'abord à gauche, ensuite à droite, avec prurit nocturne. Six séances de radiothérapie à l'Hôpital Filantropia.

Le malade est amaigri, ses téguments sont pâles et soulevés par de nombreux paquets ganglionnaires hypertrophiés : axillaires, inguinaux, cervicaux. Adénopathie profonde : lombo-aortique et iliaque.

Sous-matité et respiration bruyante au sommet droit. Rate palpable et percutable. La température ne dépasse pas 37°.

QUATRIÈME CAS

(Al. N. Biopsie, 2 novembre 1935.)



Dans le sang : R 4.200.000 ; Bl = 17.000, dont N = 80 % ; E = 5 % ; B = 1 % ; Ly = 10 % ; Mo = 4 %. L'urée sanguine est à 0,30 % (Kowarsky).

Le 7 novembre : N = 80 % ; E = 4 % ; B = 1 % ; Ly = 13 % ; Mo = 2 %. Trois séances de radiothérapie.

Le 2 novembre, BIOPSIE axillaire gauche. Sur les coupes microscopiques, il y a une forte polymorphie avec infiltration éosinophile, nombreux polyblastes, lymphocytes et plasmocytes. Peu de cellules géantes. Stéatose insulaire avec fines granulations soudanophiles et grosses gouttes intracellulaires. Sclérose diffuse.

INOCULATIONS EXPÉRIMENTALES : 12 cobayes, 2 lapins, 2 poules, 1 singe.

*I*er *passage.* — La bactérioscopie et les cultures étant négatives,

on procède aux inoculations habituelles à deux cobayes : C. R1 et et C. R1 *s. c.* et *i. p.* (2 novembre 1935 - 13 novembre 1935) ; le premier montre de rares follicules giganto-cellulaires dans le poumon, sans autres lésions nodulaires dans le foie, la rate, les reins, les ganglions lymphatiques, etc.

*II*e *passage* : *a) S. c.* et *i. p.* : C. 63/50 (13 novembre + 3 décembre 1935), dont la rate contient des lésions nodulaires au centre nécrotique, et C. 63/51 (13 novembre + 2 décembre 1935), montrant la faible réaction diffuse ordinaire.

b) Le cobaye C. R2 (2 novembre + 6 novembre 1935) est suivi par C. 63/64 (+ 13 novembre 1935) et C. 63/62 sans lésions notables.

*III*e *passage.* — *S. c.* et *i. p.* : C. 184 (2 décembre + 21 décembre 1935) et C. 140 : néant.

*IV*e *passage.* — Néant.

Inoculations aux lapins : *i. p.* : deux lapins, dont un (+ 10 décembre 1935) ne montre pas de lésions, tandis que le deuxième (+ 24 décembre 1935) est atteint par une forte cysticercose du foie et de l'épiploon, avec ascite.

Les inoculations faites à *deux poules* le 2 novembre 1935 sont également restées sans aucun résultat appréciable après quatre-vingts jours.

L'inoculation a un singe (2 novembre 1935) dans la région des ganglions inguinaux. La biopsie, pratiquée dix jours après, permet d'établir que l'architecture lymphadénoïde est sensiblement modifiée dans ce cas, par le fait d'une hyperplasie réticulaire diffuse. Dans les sinus, on trouve des cellules en mitose et une forte desquamation de cellules réticulo-endothéliales parfois chargées de pigment. Pas de leucocytes à noyaux polymorphes; rares plasmocytes. Légère périadénite.

Le broyage d'une partie du ganglion de biopsie est inoculé aux C. 63/72/813 (+ 12 décembre 1935) et au C. 65/72 (+ 3 février 1936), sans bactérioscopie, ni histoscopie positive.

DISCUSSION DES RÉSULTATS

Nos recherches expérimentales ont eu pour but principal l'étiologie de cette maladie, mais les constatations histologiques n'en sont pas moins intéressantes; nous allons les rappeler brièvement.

A. — La réaction lymphadénoïde a été constante, mais variable, — suivant la survie inégale et d'autres facteurs individuels. Les ganglions, même les plus atteints, n'ont jamais fait voir, à l'œil nu, de nécrose ou de caséification. Comme histologie, réaction diffuse des cellules réticulaires ou réticulo-endothéliales, avec formation d'histiocytes et de macrophages. La participation vasculaire, assez faible, fut limitée aux nappes diffuses d'infiltration à leucocytes pseudo-éosinophiles et plasmocytes, ou bien autour des micro-abcès. Ces derniers consistaient en un amas de fragments nucléaires pycnotiques. Périadénite infiltrative, à histiocytes et lymphocytes (formes normales ou inflammatoires).

La réaction ganglionnaire est régionale, en relation avec le siège de l'inoculation; elle va décroissant en général avec la suite des passages. Nous n'avons *jamais pu déceler des lésions granulomateuses proprement dites* au niveau des ganglions, même les plus atteints. Dans la rate et la moelle osseuse, réaction plus faible, diffuse, à prédominance réticulo-endothéliale. Pas de réaction notable du sang périphérique, ni du foie. Intégrité du cœur, du pancréas, de la surrénale, des reins. Les poumons ont montré des lésions interstitielles ou alvéolaires, attribuables aux maladies locales, indépendantes, comme époque et origine, de l'inoculation expérimentale.

Chez le singe, la réaction du tissu lymphatique est aussi intense que chez le cobaye. Au contraire, le lapin et la poule réagissent moins fortement.

Quelle valeur, doit-on attacher aux lésions sus-indiquées du tissu lymphatique ?

Etant donnée l'absence de lésions au niveau de l'inoculation et l'absence de lésions granulomateuses proprement dites, étant donnée la localisation régionale des lésions et leur évolution décroissante d'un passage à l'autre, — il s'agit, paraît-il, d'une *réaction réticulaire et réticulo-endothéliale simplement irritative.* Cette lésion est vraisemblablement déterminée par la résorption du détritus, en majeure partie protéique, apporté par l'inoculation. Protéines hétérologues pour le premier passage, — protéines homologues pour les passages suivants.

B. — Quant à l'ÉTIOLOGIE TUBERCULEUSE du lympho-granulome malin, nos résultats furent pratiquement *négatifs.*

Pour le premier cas, un seul cobaye, au III[e] passage, montre des lésions giganto-folliculaires et des bacilles acido-résistants sur frottis, lesquels furent retrouvés dans le passage suivant, mais

sans lésions histologiques et suivi par un passage totalement négatif. Les cultures sur Loewenstein, etc., furent constamment négatives. Toujours pour le premier cas, le cynomologue a infecté un des trois cobayes inoculés avec la biopsie; tuberculose de type Vuillemin, avec macro-colonies sur Loewenstein. A l'autopsie du cynomologue fut trouvée une tuberculose généralisée ; infection qui peut avoir précédé l'inoculation expérimentale pour une espèce aussi sensible à la bacillose, dans la captivité.

Toutes les autres inoculations sont restées négatives, y compris celles faites avec le filtrat du broyage ganglionnaire.

Revenons aux deux cobayes, C. 110 et C. 31, les seuls ayant présenté un ou deux bacilles acido-résistants par frottis ganglionnaire. Le bacille de la tuberculose fut donc trouvé de manière tout à fait exceptionnelle parmi la longue série des inoculations et des passages sur les animaux d'expérience.

Cette infection discrète du cobaye est difficile à caractériser, en l'absence de lésions macroscopiques, de cultures et de passages en série. En tout cas, il s'agit seulement de résultats positifs comme :

a) Frottis et lésions pour un cobaye au III^e^ passage;

b) Frottis pour un cobaye au IV^e^ passage, tandis que le I^er^, le II^e^ et le V^e^ passage furent entièrement négatifs

Dans ces circonstances, les bacilles acido-résistants trouvés chez C. 110 et C. 31 ne peuvent pas acquérir la signification d'un résultat positif, — quant à l'étiologie tuberculeuse de la maladie de Sternberg-Paltauf, — pas plus que la tuberculose indiscutable du cynomologue.

Avec moins d'inoculations, les résultats seraient restés complètement négatifs.

Pour le deuxième cas, un cobaye sur huit au I^er^ passage fait voir de très rares bacilles acido-résistants, qu'il fut impossible de transmettre en série, sans lésions, sans bacilles cultivables. Sont restés totalement indemnes, en outre : au II^e^ passage, quatre cobayes, et autant au III^e^; enfin un cobaye au IV^e^ passage. Il nous semble que la même interprétation s'impose pour ce cas aussi : le matériel humain ne contenait pas de bacilles de Koch.

Pour le troisième cas, restent indemnes six cobayes au premier passage, cinq au deuxième et trois sur quatre au troisième passage; un seul cobaye, C. 140/*b*, fait voir des acido-résistants extrêmement rares; passages positifs, mais tout aussi pauvres en germes chez C. 140/*c*, au IV^e^ passage, sans lésions, les cultures restant négatives.

Pour le quatrième cas enfin, un cobaye C. R1, sur deux au I^er^

passage, fait des lésions pulmonaires discrètes et douteuses; son broyage de ganglions et de rate est faiblement infectieux pour C. 63/50 (= IIe passage); mais, à partir de ce dernier, il n'y a que des résultats négatifs pour le IIIe et le IVe passage. De même, cultures et histologie négatives.

Avec un si large nombre d'inoculations et un examen aussi minutieux que possible des frottis, des cultures et des préparations histologiques, les résultats négatifs doivent acquérir une signification toute particulière. Notre méthode de recherche a développé au maximum toute chance de résultats positifs. *Ce sont justement des lésions en pleine évolution,* sans nécrose ni cicatrices, — suivant l'état des biopsies, — *qui auraient dû contenir des bacilles de Koch vivants et virulents* si ce germe exerçait une influence décisive sur l'apparition et l'évolution du lympho-granulome malin.

Nos recherches furent également négatives pour les variétés humaine, bovine et aviaire. Même résultat négatif avec le filtrat du broyage ganglionnaire.

Les résultats que nous avons obtenus, ainsi que ces déductions, nous font partager l'opinion des auteurs qui *ne reconnaissent pas un rôle étiologique au bacille de Koch dans la maladie de Hodgkin-Sternberg-Paltauf.*

Quelques mots concernant le principe des inoculations en pareils cas.

Le matériel de biopsie semble convenir beaucoup mieux que le matériel d'autopsie, puisque, vers la fin d'une maladie aussi épuisante, la tuberculose peut apparaître et se développer rapidement, — témoin notre premier cas.

Mais, d'autre part, il faut reconnaître que le matériel de biopsie procuré avec parcimonie, partagé avec l'histologiste, ne représente qu'un pourcentage infime par rapport à la néoplasie. En accordant le bénéfice du doute à l'hypothèse de l'étiologie tuberculeuse, on peut admettre qu'une biopsie n'est pas la source idéale de matériel inoculable. Il *faudrait donner la préférence au matériel opératoire,* plus abondant, soigneusement préparé pour l'inoculation, traité au besoin par l'antiformine, de manière à *réaliser* toute chance de résultat positif, en injectant un très large nombre d'animaux.

Ajoutons que nous ne sommes pas enclins à admettre, *d'après le tableau des lésions,* une étiologie infectieuse pour la maladie de Hodgkin-Sternberg-Paltauf : la monotonie des lésions typiques

d'un cas à l'autre et même dans les différentes localisations d'un même cas, ne nous paraissent pas attribuables au paradigme infectieux des réactions histologiques. Une seule réserve est à faire : nous ne connaissons pas la lésion initiale — chancre d'inoculation ou colonie fondatrice — de cette étrange maladie dont l'étude offre de nombreuses perspectives.

CONCLUSIONS

Le bacille de Koch (variété humaine, bovine, aviaire, virus filtrable) n'est pas un hôte permanent et constant des lésions en pleine évolution du lympho-granulome malin; son rôle étiologique reste à démontrer.

Le type de la réaction histologique n'appartient d'ailleurs pas au paradigme infectieux.

Les inoculations expérimentales développent une réaction histologique passagère et sans caractères spécifiques.

Le matériel humain prélevé à l'opération doit être considéré comme le matériel de choix pour les inoculations.

SUR LA LYSE DU PNEUMOCOQUE PAR LE CHLOROFORME (1)

par

S.-A. STURDZA

(Travail de l'Institut Cantacuzino)

La dissolution du pneumocoque par la bile a lieu, ainsi que l'ont constaté Goebel et Avery [7] sans que les protéines soient décomposées en molécules plus simples. En effet, l'activité des ferments protéolytiques de ces germes est inhibée par les sels biliaires. Cette particularité constitue une différence essentielle entre la lyse par la bile et l'autolyse du pneumocoque. Toutefois, on a continué à considérer le phénomène de Neufeld comme un phénomène d'autolyse, même après l'apparition du travail de Goebel et Avery. Cette façon de voir semblait justifiée par un trop grand nombre de faits pour être abandonnée; mais, pour concilier la discordance mentionnée, on a suggéré, d'une façon toute hypothétique, qu'il existait, chez le pneumocoque, plusieurs enzymes autolytiques, dont seulement une part agirait dans le phénomène de Neufeld, tandis que les autres, en particulier les enzymes protéolytiques, resteraient inactives [5, 20].

Bürgers, Schermann et Schreiber ont observé, dès 1912, que le chloroforme provoque un éclaircissement rapide des suspensions de pneumocoques [3]. Neufeld et Etinger-Tulczynska ont vérifié ce fait [16]. Et pourtant, le chloroforme inhibe l'activité des enzymes protéolytiques du pneumocoque [12]. Voici donc un second cas de lyse ayant lieu sans l'intervention des enzymes protéolytiques.

On peut, par conséquent, se demander si la lyse par le chloroforme ne devrait pas être rapprochée du phénomène de Neufeld et si les mêmes enzymes n'en seraient pas responsables.

Les expériences qui suivent répondent affirmativement à ces questions.

(1) Reçu le 29 novembre 1938.

Technique suivie. — Les pneumocoques utilisés (1) sont tous facilement solubles dans la bile. Ils ont été cultivés dans de l'eau peptonée et glucosée (milieu T [23]). Les sous-cultures de la même souche présentent, dans ce milieu, une opacité identique après 10-11 heures d'étuve à 37° C., même si les quantités ensemencées ont été inégales. Les résultats obtenus au cours des différentes expériences sont donc, à peu de choses près, comparables. D'autre part, l'autolyse ne commence à être visible, chez les pneumocoques employés, qu'après 36 heures, à 37° C. Aussi nous avons eu soin de n'employer que des cultures âgées de 12 à 24 heures.

L'intensité de la lyse a été appréciée à la lumière diffuse du jour, en comparant le trouble des suspensions à des opacités-étalons, préparées en diluant des cultures de 12-24 heures dans du milieu T. Tout en présentant l'avantage de la simplicité et de la rapidité, ce procédé est d'une précision pratiquement suffisante. L'évaluation du trouble est facilitée en estimant la visibilité d'une bande obscure à travers le milieu de culture. Les suspensions-étalons étaient préparées peu de temps avant l'expérience. Elles contenaient 90, 80, 70, 60, 50, 40, 30, 20, 15 et 10 % d'une culture de 12-24 heures.

Dans les travaux cités plus haut [3, 12, 16], la lyse du pneumocoque en présence du chloroforme n'a été que sommairement mentionnée, Nous donnerons donc ici une description plus détaillée de ce phénomène.

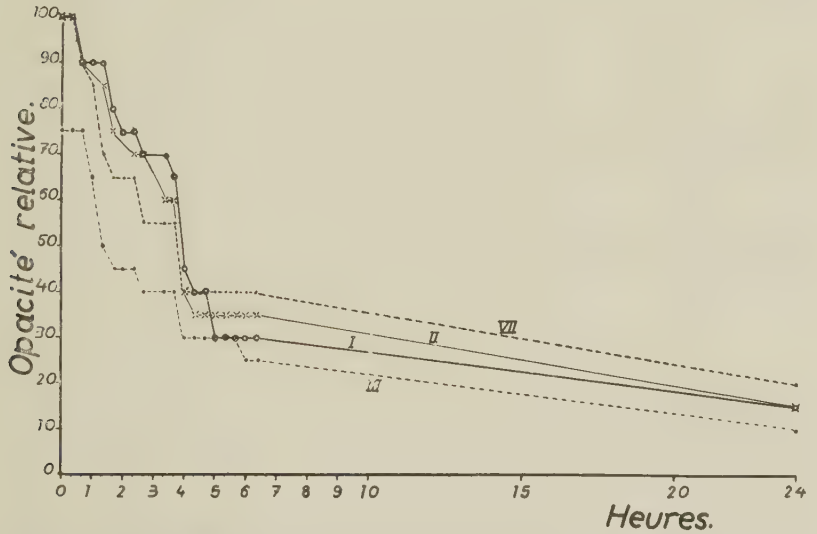
Si on fait tomber dans une culture liquide de pneumocoques quelques gouttes de chloroforme, on pourra noter après quelques dizaines de minutes, dans certains cas déjà après 10-15 minutes, un éclaircissement de la suspension. Pendant les 4-5 heures qui suivent, l'éclaircissement progresse assez rapidement. Ensuite l'allure du phénomène se ralentit, sans toutefois que la clarification s'arrête complètement. Après 24 heures, on ne trouve plus qu'une opacité relative de 10-20 %. La figure 1 représente l'éclaircissement simultané de 4 cultures différentes (6 centimètres chacune) additionnées de 10-12 gouttes de chloroforme. Toutes les souches de pneumocoques examinées par nous se sont montrées solubles (2).

Aux modifications macroscopiques correspondent des altérations progressives constatables au microscope. Lorsque l'éclaircissement commence à peine à être décelable à l'œil nu, les germes

(1) Pneumocoque I Pasteur, II 2427, III Pasteur B et VII I. C., de la Collection de l'Institut Cantacuzène de Bucarest.

(2) Il serait tout aussi intéressant que significatif de pouvoir constater, à l'aide de souches très différemment solubles, l'existence d'un parallélisme entre la solubilité par la bile et par le chloroforme. Vu le peu d'exactitude d'évaluation de l'opacité par la méthode adoptée, nous avons cru que les différences qui s'observent, entre les divers pneumocoques sur le graphique, n'étaient pas assez marquées pour donner lieu à une telle expérience.

ont déjà en grande partie perdu la faculté de retenir le Gram. Beaucoup sont totalement Gram négatifs. D'autres présentent une partie centrale à un ou plusieurs grains, Gram positifs. D'autres enfin — ce sont les plus rares — gardent encore franchement le Gram. Tous les éléments d'un champ microscopique ne présentent donc pas, au même moment, le même degré d'altération. Aux modifications de la colorabilité se joignent bientôt les altérations morphologiques : les contours se dessinent moins nettement, la forme lancéolée des coccus s'arrondit irrégulièrement; mais ce qui frappe avant tout, c'est la diminution de la taille des germes.



A un stade encore plus avancé de la lyse, il ne reste plus que des formes parfaitement décolorables, si ténues et déformées qu'on hésiterait à les mettre en rapport avec les pneumocoques si elles n'affectaient encore la disposition en diplo, particulière à ce germe. Enfin, une fois la lyse achevée, on peut obtenir par centrifugation une masse amorphe, Gram négative, dans laquelle on trouve, par-ci par-là, quelques rares formes, extrêmement fines, arrondies ou bacillaires, disposées en diplo. A l'ultra-microscope, on voit que petit à petit les formes intactes sont remplacées par des points étincelants de plus en plus fins, disposés deux par deux. Les phénomènes les plus caractéristiques sont donc : perte de la colorabilité par le Gram, diminution de la taille, transformation en une masse amorphe, Gram négative. Il est juste d'ajouter que les modifications ne se suivent pas toujours dans l'ordre

décrit. Ainsi, on trouve assez fréquemment des germes dont la morphologie est profondément altérée, mais qui sont encore Gram positifs.

D'après cette description, on peut se rendre compte que *les modifications constatées correspondent à celles connues pour avoir lieu au cours de l'autolyse et de la lyse du pneumocoque par la bile*. Mais, si la lyse du pneumocoque par le chloroforme était vraiment due à l'activité des enzymes autolytiques, il devrait être possible d'établir encore d'autres analogies entre ces différents modes de lyse.

Dans le but d'élucider cette question, nous avons étudié d'abord l'effet de la stérilisation des cultures par la chaleur sur l'action du chloroforme. Comme on le sait, après avoir été tués par chauffage, les pneumocoques ne sont plus autolysables, ni solubles dans la bile, ce qui est dû à l'inactivation des ferments autolytiques. En effet, la solubilité réapparaît si l'on additionne les suspensions de germes tués par la chaleur d'une certaine quantité de germes vivants ou d'un extrait de germes vivants contenant les autolysines [9, 2, 15, 16, 25, 26, 27, 4]. L'expérience suivante montre que des faits analogues peuvent être constatés aussi dans le cas de la lyse par le chloroforme.

Préparation de l'extrait lysant. — Nous avons employé un des procédés d'Avery et Cullen [2], simplifié conformément aux principes établis par Dubos [5] et par nous-même [22]. Le culot de centrifugation (= 3 cmc.) de 50 centimètres cubes d'une culture de 17 heures de pneumocoques I, a été soumis pendant 30 minutes à une température d'environ — 16° C. (mélange réfrigérant de glace pilée et de sel marin). La suspension a été gardée pendant la nuit à la température du laboratoire pour être libérée, le jour suivant, par centrifugation des résidus microbiens. Le liquide décanté, légèrement opalescent et stérile, constitue l'extrait à utiliser.

Préparation du substratum cellulaire. — 3 tubes contenant chacun 6 centimètres de culture de 17 heures (pneumocoque I) ont été maintenus pendant 30 minutes à 62°. Après s'être refroidies, les suspensions ont été traitées comme l'indique le tableau I. Pendant toute la durée de l'observation, les tubes ont été gardés à la température du laboratoire.

TABLEAU I

Contenu du tube				Opacité relative des suspensions après									
				0	2 heures 30 min.	24 heures	2×24 heures	3×24 heures	4×24 heures	5×24 heures	6×24 heures	7×24 heures
N° 1....	6 cc. de culture morte.	0,6 cc. de sérum physiol.	—	90	90	90	90	90	90	90	90	90
N° 2....	6 cc. de culture morte.	0,6 cc. de sérum physiol.	10 gouttes de chloroforme.	90	90	90	90	90	90	90	90	90
N° 3....	6 cc. de culture morte.	0,6 cc. d'extrait.	10 gouttes de chloroforme.	90	70	60	60	60	55	50	50	40

On voit, d'après ce tableau, qu'alors que la suspension de pneumocoques morts additionnée seulement de chloroforme est restée intacte, celle qui contient en plus de l'extrait de pneumocoques vivants s'est notablement éclaircie. Deux faits se dégagent de cette expérience : 1° *les pneumocoques qui ont été tués par la chaleur ne sont plus solubles en présence du chloroforme*; 2° *ils redeviennent solubles si on leur ajoute un extrait de pneumocoques vivants*. Ces constatations viennent à l'appui de l'hypothèse d'après laquelle les enzymes autolytiques pourraient avoir un rôle dans la lyse du pneumocoque par le chloroforme. Mais nous avons voulu voir si on pourrait établir encore d'autres analogies entre ce phénomène et la lyse par la bile, en faisant varier les conditions expérimentales.

Les expériences qui suivent ont trait à l'influence de la réaction du milieu. Nous avons émulsionné dans des solutions tampons, dont le pH est indiqué dans le tableau II, 5 gouttes d'une suspension très dense de pneumocoques. Nous avons ensuite ajouté à chaque suspension environ 10 gouttes de chloroforme.

TABLEAU II

Réaction du milieu de suspension (pH)	Opacité relative des suspensions après		
	24 heures	48 heures	72 heures
4,4	100	100	100
5	100	100	100
7,1	18	10	10
8,8	40	30	20

On voit que la lyse par le chloroforme est en fonction de la réaction du milieu. Tandis que dans les milieux acides (pH 4,4 et 5), l'éclaircissement n'a pas eu lieu, la lyse a été intense dans un milieu à peu près neutre, et lente à un pH de 8,8. Le tableau III suivant indique les résultats correspondants obtenus avec des sels biliaires.

TABLEAU III

pH du milieu	Opacité relative des suspensions après								
	2 minutes	4 minutes	6 minutes	8 minutes	10 minutes	12 minutes	16 minutes	20 minutes	24 heures
4,4	100	100	100	100	100	100	100	100	100
5	100	100	100	100	100	100	100	100	100
7,1	100	80	60	50	50	50	40	30	10
7,8	100	100	100	90	90	90	90	90	20

Il est évident que l'influence des variations du pH a été sensiblement la même que dans le cas de la lyse par le chloroforme. Ces résultats concordent, d'autre part, assez exactement à ceux de Lord et Nye [8-11], d'Avery et Cullen [2], de Mair [15] et de Dubos [4, 5], qui ont fait connaître les limites d'acidité et d'alcalinité dans lesquelles les enzymes autolytiques du pneumocoque sont actives. Au-dessus et au-dessous d'un optimum qui est situé aux environs d'un pH de 7, l'activité de ces enzymes décroît progressivement pour devenir nulle vers un pH de 4,5-5 du côté acide, et vers 8,5-9 du côté alcalin. *De même que le phénomène de Neufeld, la dissolution du pneumocoque par le chloroforme*

a donc lieu seulement à la condition que l'on maintienne la réaction du milieu dans les limites favorables à l'activité des enzymes autolytiques.

Selon DUBOS [5], en concentration suffisante (1), l'iode annihile l'activité des enzymes autolytiques du pneumocoque, de sorte que le phénomène de Neufeld et l'autolyse sont empêchés. Nous avons institué une série d'essais en vue de nous rendre compte si l'iode aurait la même action inhibitrice sur la lyse par le chloroforme. Les conditions de travail choisies par nous étant différentes de celles de DUBOS (autre milieu de culture et de suspension, autres souches de pneumocoques, autre méthode d'évaluer la lyse), nous avons commencé par reprendre l'expérience ayant trait à l'influence de l'iode sur le phénomène de Neufeld (tableau IV). Des expériences préliminaires nous avaient en effet montré que, dans ces conditions, il fallait employer l'iode à doses beaucoup plus fortes que DUBOS.

TABLEAU IV

Le phénomène de Neufeld, en présence de l'iode.

Contenu du tube			Opacité relative des suspensions après								
Culture en milieu T	Taurocholate de Na commercial (1 : 10)	Iode n/10	3 minutes	5 minutes	7 minutes	9 minutes	13 minutes	15 minutes	20 minutes	24 heures	48 heures
6 cc.	0,3 cc.	1,6 cc.	100	100	100	100	100	100	100	100	100
»	»	1,4 »	100	100	100	100	100	100	100	100	100
»	»	1,2 »	100	100	100	100	100	100	100	100	100
»	»	1,0 »	100	100	100	100	100	100	100	100	100
»	»	0,8 »	100	100	100	100	100	100	100	100	100
»	»	0,6 »	100	100	100	50	50	50	50	50	45
»	»	0,4 »	70	35	30	25	20	20	20	15	—
»	»	0,2 »	60	30	20	20	15	15	15	15	—
»	»	0,1 »	50	30	20	20	15	15	15	20	—
»	»	0,05 »	50	30	20	15-20	15	15	15	20	—
»	»	0,025 »	60	30	20	15-20	15	15	15	25	—
»	»	0 »	50	25	20	20	15	15	15	15	—

Les sels biliaires ont été dissous dans une solution physiologique de NaCl.

(1) 0,1 cc. d'une solution n/10 pour 3 centimètres cubes de suspension microbienne.

Ce tableau fait voir que, pour empêcher totalement la lyse par les sels biliaires, nous avons dû additionner 6 centimètres cubes de culture en milieu T, de 0,8 cc. d'une solution décinormale d'iode (concentration quatre fois plus forte que dans les expériences de Dubos). Au-dessous de ce taux, l'iode ralentit le phénomène de Neufeld sans l'empêcher. Enfin, à de très faibles concentrations, l'influence de l'iode ne se fait pas sentir ou paraît même dans certains cas favoriser légèrement la lyse. Le tableau V suivant donne les résultats obtenus de la même façon, mais avec le chloroforme :

TABLEAU V

La dissolution du pneumocoque par le chloroforme, en présence de l'iode.

Contenu du tube			Opacité relative des cultures après				
Culture	Chloroforme	Iode n/10	2 heures	3 heures	7 heures	24 heures	48 heures
6 cc.	10 gouttes.	1,6 cc.	100	100	100	100	100
»	»	1,4 »	100	100	100	100	100
»	»	1,2 »	100	100	100	100	100
»	»	1,0 »	100	100	100	100	100
»	»	0,7 »	100	100	100	100	100
»	»	0,6 »	100	100	90	75	70
»	»	0,4 »	100	70	60	60	40
»	»	0,2 »	90	60	45	45	30
»	»	0,1 »	90	60	45	40	—
»	»	0,05 »	80	50	35	30	—
»	»	0,025 »	75	50	30	30	—
»	»	0 »	70	40	35	30	—

L'examen du tableau V montre que, dans les conditions de travail adoptées, l'iode n/10 arrête complètement la lyse par le chloroforme lorsqu'on l'ajoute en quantité de 0,8 cc. pour 6 centimètres cubes de culture. En moindre quantité, bien que ralentissant considérablement l'éclaircissement, l'iode ne l'a pas empêché. Enfin, en solution très diluée, l'iode n'a pas eu d'influence (1). *Les résultats se superposent donc aussi dans cette expérience-ci d'une façon frappante à ceux obtenus avec les sels biliaires.*

Ainsi que nous l'avons signalé [20-22], la dissolution des

(1) D'autres expériences, analogues à celle-ci, nous ont montré que, tout comme dans le cas du phénomène de Neufeld, l'iode très dilué peut favoriser aussi la lyse par le chloroforme. Nous reviendrons, dans une publication prochaine, sur ce fait qui, dans l'expérience décrite, n'a pas été visible.

pneumocoques (autolyse spontanée, lyse par les sels biliaires, par congélation) peut être inhibée en additionnant les germes d'un peu de sérum provenant d'animaux immunisés avec des

TABLEAU VI

Contenu du tube d'expérience			Opacité relative des cultures après		
			24 heures	48 heures	72 heures
4,6 cc. de culture (type II).	0,45 cc. de sol. physiol. de NaCl.	10 gouttes de chloroforme.	18	15	10-15
»	0,45 cc. de sérum de cheval normal.	»	20	15	10-15
»	0,45 cc. de sérum de cheval (anti-I).	»	100	70	50
»	0,45 cc. de sérum de cheval (anti-III).	»	100	70	55
»	0,1 cc. de sol. physiol. de NaCl.	»	15	15	15
»	0,1 cc. de sérum de cheval normal.	»	15	15	15
»	0,1 cc. de sérum de cheval (anti-I).	»	60	40	40
»	0,1 cc. de sérum de cheval (anti-III).	»	50	40	40

Les sérums ont été ajoutés aux cultures, au moment même de l'expérience.

pneumocoques hétérologues. Quoique le mécanisme de cette réaction ne soit pas élucidé, il était intéressant de voir si on retrouverait le même phénomène d'inhibition en utilisant comme agent lytique le chloroforme. Les résultats réunis dans le tableau VI nous renseignent à ce sujet. Plusieurs cultures de

pneumocoques, les unes contenant du sérum antipneumococcique hétérologue de cheval, les autres une quantité équivalente de sérum normal ou de sérum physiologique, ont été soumises à l'action du chloroforme. Les quantités de sérums ajoutées ont été choisies arbitrairement; il est possible que l'on puisse obtenir des résultats encore plus saillants en utilisant d'autres concentrations.

On voit que *les sérums antipneumococciques exercent une action frénatrice très puissante sur la lyse du pneumocoque par le chloroforme, ce qui constitue, sans contredit, une analogie de plus avec l'autolyse spontanée et la lyse du pneumocoque par la bile.*

De tout ce qui précède, il résulte que la dissolution du pneumocoque par le chloroforme présente beaucoup d'analogies avec la lyse par les sels biliaires. Dans l'un et l'autre cas, on assiste à une clarification des suspensions bactériennes qui se traduit au microscope par des modifications morphologiques et tinctorielles identiques. D'autre part, les résultats obtenus, en faisant varier les conditions expérimentales, sont sensiblement les mêmes dans les deux cas : même comportement vis-à-vis de la chaleur, de l'acidité et de l'alcalinité du milieu, de l'iode à diverses concentrations et des sérums antipneumococciques hétérologues. Les conditions de réussite paraissent donc être identiques pour ces deux phénomènes. Bien entendu, elles se superposent aussi aux conditions d'activité des enzymes autolytiques du pneumocoque. En d'autres termes : *la lyse du pneucocoque par le chloroforme s'arrête dès que l'on place les germes dans des conditions défavorables à l'activité des autolysines. La conclusion que la lyse par le chloroforme serait un phénomène d'autolyse nous paraît indiscutable.* Mais par quel mécanisme le chloroforme déclanche-t-il cette autolyse ? Comme dans le cas du phénomène de Neufeld (1), trois hypothèses sont possibles : le chloroforme agirait : 1° sur les enzymes en augmentant leur pouvoir lytique; 2° sur le substratum, c'est-à-dire sur les cellules microbiennes en les rendant plus sensibles à l'action des enzymes, et enfin, 3° ces deux actions auraient lieu simultanément. L'expérience suivante permet de choisir entre ces différentes hypothèses. Une culture de pneumocoques tués par chauffage à 62° C. pendant 30 minutes a été divisée en deux portions de 6 centimètres cubes chacune. On ajoute au premier tube

(1) Voyez : Mair [15], et Neufeld et Etinger-Tulczynska [16].

quelques gouttes de chloroforme. Les deux tubes sont ensuite additionnés de la même quantité d'enzyme autolytique. Le tableau VII montre les progrès de la lyse.

TABLEAU VII

Contenu du tube			Opacité des suspensions après								
			0	2 heures 30 min.	24 heures	2×24 heures	3×24 heures	4×24 heures	5×24 heures	6×24 heures	7×24 heures
6 cc. de culture morte.	0,6 cc. d'extrait (1).	10 gouttes de chloroforme.	90	70	60	60	60	55	50	50	40
6 cc. de culture morte.	0,6 cc. d'extrait (1).	—	90	65	60	60	60	55	45	50	40

(1) Pour la préparation de l'extrait, voyez l'expérience correspondant au premier tableau.

A part d'insignifiantes différences attribuables aux erreurs d'évaluation, la lyse n'a pas été plus rapide dans le premier que dans le second tube. Nous pouvons donc éliminer la première hypothèse : *le chloroforme ne joue pas le rôle d'un activateur des ferments autolytiques,* résultat auquel on pouvait d'ailleurs s'attendre. Reste la seconde hypothèse : le chloroforme agirait en modifiant le substratum cellulaire, en le préparant en quelque sorte à l'action des enzymes autolytiques. Or, on sait que le pneumocoque résiste à l'action de ses enzymes tant qu'il est vivant [2]. Pour annihiler cette résistance, il faut le tuer. Tout moyen n'est pas propre à cet effet : la plupart des agents pneumococcocides inactivent les enzymes en même temps que le germe. Le tableau VII prouve qu'au contraire, le chloroforme ne gêne pas du tout l'activité des enzymes autolytiques. En sa présence, la suspension additionnée d'extrait pneumococcique s'est tout aussi rapidement éclaircie que la suspension qui ne contenait que de l'extrait. Au cours de ses recherches sur l'autolyse du pneumocoque, Dubos a pu faire des constatations analogues

(1) L'extrait contenant l'enzyme a été préparé par congélation, conformément à la technique décrite plus haut.

[4]. D'ailleurs, dès les premières études relatives à l'action du chloroforme *in vitro*, SALKOWSKY avait insisté sur le fait que, malgré ses propriétés fortement bactéricides, il n'altère pas les enzymes [19]. Aussi cet antiseptique a-t-il été, depuis, fréquemment utilisé dans les expériences ayant trait à l'autolyse des tissus. *Le rôle du chloroforme serait donc de tuer le germe sans altérer l'enzyme.* Il est vrai que nous ne donnons ici aucune preuve directe de son action pneumococcocide. La difficulté consiste en ce que, pour pouvoir la constater indépendamment de l'effet lytique, il faudrait avoir des pneumocoques insolubles. Mais son action bactéricide a été suffisamment prouvée sur d'autres germes. En outre, le fait que l'on peut obtenir une lyse analogue à celle décrite ici aussi par d'autres agents pneumococcocides (1) prouve que c'est bien par cette propriété que le chloroforme déclanche l'autolyse. Ainsi on peut lyser les pneumocoques en les tuant à l'aide d'un acide organique et en les ramenant ensuite à un pH favorable à l'activité des enzymes [15, 5]. Un effet semblable peut être obtenu par le froid : après avoir été congelés, les pneumocoques s'autolysent en quelques minutes [5, 22]. Enfin, il semble que l'on puisse déclancher la lyse du pneumocoque avec n'importe quel antiseptique, à la condition de l'employer à une concentration suffisante pour tuer le germe sans inactiver l'enzyme. De cette façon, DUBOS a pu dissoudre les pneumocoques à l'aide de l'éther, du tricrésol et du toluène [5]. Plus récemment, le même auteur a étudié l'effet du formol [6]. Très dilué (0,02-0,05 %), cet antiseptique tue rapidement le pneumocoque, mais l'activité des enzymes reste intacte. En effet, après 24 heures, les suspensions ainsi traitées ne contiennent que des germes ne prenant plus le Gram, tandis que le témoin (suspension non formolée) présente le même degré d'altération seulement après 96 heures. Plus concentré (au-dessus de 0,2 %), le formol inactive enzymes et pneumocoques en même temps : aussi peut-on garder la suspension indéfiniment, sans que l'autolyse ait lieu (2). D'ailleurs, des phénomènes qui paraissent être du même ordre ont été décrits aussi chez d'autres germes. KRUSE [13, 14] avait signalé, dès 1910, qu'à hautes dilutions les

(1) Par eux-mêmes non lysants.

(2) Avec le chloroforme, la technique de l'expérience se trouve être simplifiée par le fait qu'étant seulement très peu soluble dans l'eau, la concentration nécessaire à la réussite de l'expérience se réalise spontanément par l'addition de quelques gouttes de cet antiseptique au milieu de suspension.

antiseptiques provoquent la dissolution de beaucoup d'entre eux. Depuis, beaucoup d'auteurs ont fait des constatations analogues. Ainsi, G. Petrovanu a pu provoquer la lyse des vibrions cholériques à l'aide de l'eau oxygénée [18]. En employant des solutions très faibles de formol, d'acide phénique, de sublimé, de cyanure de mercure, Wollman a obtenu la lyse du colibacille, du bacille dysentérique, de la bactéridie charbonneuse et du staphylocoque blanc [24, 27]. Dans ces cas, l'analyse des faits n'a pas été poussée si loin que dans le cas du pneumocoque. Mais l'analogie est telle que l'on peut supposer un mécanisme analogue. Les substances bactéricides employées ne seraient donc qu'apparemment l'agent lytique. Comme le supposaient déjà Kruse [13, 14] et ses collaborateurs [3], les germes sont lysés par leurs propres ferments; le rôle des antiseptiques est d'annihiler la résistance des germes vis-à-vis des ferments lytiques.

Après avoir insisté sur les analogies constatées entre la lyse du pneumocoque par le chloroforme et par la bile, il convient de mentionner une différence. On sait, depuis Nicolle et Adil-Bey [17], que les sels de Mg ont une action favorisante très marquée sur la dissolution des germes par les sels biliaires. Le tableau VIII donne une idée de ce curieux phénomène.

TABLEAU VIII

Influence du sulfate de magnésium à différentes concentrations sur la dissolution du pneumocoque par le taurocholate de Na commercial.

Concentration en $MgSO_4$	Opacité relative des cultures après									
	2 min.	4 min.	6 min.	8 min.	10 min.	12 min.	14 min.	16 min.	18 min.	20 min.
1 : 64	100	40	30	15	10-15	10	<10	—	—	—
1 : 128	100	45	30	20	15	10	<10	—	—	—
1 : 256	100	50	35	20	15	15	10	—	—	—
1 : 512	100	50	35	30	20	18	15	10	<10	—
1 : 1024	100	60	40	40	30	25	20	15	15	10
1 : 2048	100	70	50	45	35	30	20	20	20	15
0	100	80	70	50	40	30	25	25	20	<20

Milieu de culture : T. Concentration des sels biliaires dans les cultures = 1 : 600.

Dans le cas de la lyse par le chloroforme, nous n'avons pu trouver rien de semblable (tableau IX).

TABLEAU IX

Dissolution du pneumocoque par le chloroforme, en présence du sulfate de magnésium.

Concentration en $MgSO_4$	Opacité relative des cultures après										
	0	20 min.	40 min.	1 heure	1 h. 40 min.	2 heures	2 h. 20 min.	2 h. 40 min.	3 heures	3 h. 20 min.	5 heures
1 : 64..	100	100	90	80	90	80	70	70	70	60	60
1 : 128.....	100	100	90	80	80	80	70	60	50	45	40
1 : 256.....	100	100	90	80	70-80	70	70	70	55	45	45
1 : 512.....	100	100	90	80	80	70	70	65	60	50	45
1 : 1024.....	100	100	90	80	80	70	65	65	60	50	45
1 : 2048.....	100	100	80	80	80	70	60	60	60	50	50
0.....	100	100	80	80	70	70	60	60	50	50	50

Chaque culture a été additionnée de 10 gouttes de chloroforme.

La lecture du tableau IX montre que, loin de favoriser la dissolution du pneumocoque par le chloroforme, le $MgSO_4$ semble même retarder le phénomène lorsqu'il est présent en quantité suffisante. L'intérêt de cette constatation est accru par le fait qu'à l'égard du $MgSO_4$, l'autolyse du pneumocoque se comporte de même [20]. En ce qui concerne l'influence du sulfate de magnésium, la lyse par le chloroforme ressemble donc à l'autolyse spontanée du pneumocoque et non au phénomène de Neufeld. D'où provient cette différence entre la dissolution par la bile et les autres modes d'autolyse du pneumocoque ? On peut supposer que les sels de Mg agissent sur le mécanisme par lequel la bile accélère la lyse et non pas sur les phénomènes qui ont lieu entre enzymes et substratum cellulaire, c'est-à-dire sur la lyse elle-même.

En résumé : Le chloroforme provoque la dissolution des pneumocoques. Bien que moins rapide que la lyse par la bile dans les conditions ordinaires, le phénomène présente beaucoup d'analogies avec celle-ci. Dans ces deux cas, la lyse se traduit au microscope par les mêmes altérations et ne peut avoir lieu que dans des conditions favorables à l'activité des enzymes autolytiques. Il est donc très probable que, tout comme le phénomène de Neufeld, la lyse par le chloroforme soit un phénomène d'autolyse.

BIBLIOGRAPHIE

1. Avery (O.-T.) et Glenn E. Cullen : *J. exp. med.*, 32, p. 547, 1920.
2. Id. : *Ibid.*, 38, p. 199, 1923.
3. Bürgers, Schermann et Schreiber (F.) : *Z. Hyg.*, 70, p. 119, 1912.
4. Dubos (J.-René) : *J. exp. med.*, 65, p. 873, 1937.
5. Id. : *Ibid.*, 66, p. 101, 1937.
6. Id. : *Ibid.*, 67, p. 389, 1938.
7. Goebel, Walther (F.) et Avery (O.-T.) : *J. exp. med.*, 49, p. 267, 1929.
8. Lord (F.-T.) et Nye (R.-N.) : *J. exp. med.*, 30, p. 389, 1919.
9. Id. : *Ibid.*, 35, p. 689, 1922.
10. Id. : *Ibid.*, 35, p. 699, 1922.
11. Id. : *Ibid.*, 35, p. 703, 1922.
12. Jobling (J.-W.) et Strouse (S.) : *J. exp. med.*, 18, p. 597, 1913.
13. Kruse : *Münch. med. Woch.*, 1910, I, p. 685.
14. Id. : *Allgem. Mikrobiologie*, 1910 (d'après Neufeld et Etinger-Tulczynska).
15. Mair (W.) : *A System of Bacteriology*, 2, p. 168, Londres, 1929.
16. Neufeld (F.) et Etinger-Tulczynska (R.) : *Arch. f. Hyg.*, 103, p. 107, 1930.
17. Nicolle (M.) et Adil-Bey : *Ann. de l'Inst. Pasteur*, 21, p. 20, 1907.
18. Petrovanu (I.) : *C. R. Soc. Biol.*, 92, p. 459, 1925.
19. Salkowski (E.) : *D. med. Woch.*, 14, p. 309, 1888.
20. Sturdza (S.-A.) : *Thèse Doct. en Méd.*, Bucarest, 1938.
21. Id. : *C. R. Soc. Biol.*, 129, p. 410, 1938.
22. Id. : *Ibid.*, 129, p. 1227, 1938.
23. Truche (Ch.), Cramer (A.) et Cotoni (L.) : *Ann. de l'Inst. Pasteur*, 25, p. 480, 1911.
24. Wollman (E.) : *C. R. Soc. Biol.*, 111, p. 578, 1932.
25. Wollman (E.) et Averbusch (M.) : *C. R. Soc. Biol.*, 110, p. 623, 1932.
26. Id. : *Bull. Acad. Méd.*, 107, p. 126, 1932.
27. Wollman (E.) et Wollman (E.) : *Ann. de l'Inst. Pasteur*, 49, p. 41, 1932.

SEPTICÉMIE A *BACILLUS FUNDULIFORMIS*

forme intestinale

par

Costin FULGA

Les travaux récents sur les infections dues aux microbes anaérobies ont attiré l'attention sur le *Bacillus funduliformis,* considéré auparavant comme un saprophite banal et parfaitement inoffensif. Les auteurs français, et les américains ensuite, ont prouvé par des études poussées qu'il peut devenir pathogène et provoquer des septicémies mortelles d'ordre médical ou chirurgical.

En Roumanie, il n'y a eu jusqu'à présent qu'un seul cas, publié par MM. Lupu, Litarczek, Dinischiotu et Lăzărescu. Le second, qui fait l'objet de cette étude, présente certaines manifestations anatomo-cliniques qui méritent d'être relevées.

Il s'agit d'un forgeron de trente-cinq ans qui a été pris brusquement de frissons suivis de fièvre, d'inappétence et de douleurs dans le dos. Il continua à travailler, mais, dix jours après, les douleurs l'ont obligé à s'aliter. Ces douleurs s'étendent à l'hypocondre droit, deviennent très vives et pressives. Le malade a des transpirations profuses, une constipation avec selles tous les trois-quatre jours, parfois sanglantes, et des urines rares, foncées.

Le 6 janvier 1938, un mois après le début de sa maladie, il se fait interner dans un service de médecine générale où l'on constate :

Pâleur accentuée des muqueuses et des téguments, amaigrissement important et asthénie considérable. La langue est rouge foncé dans le tiers antérieur et sur les bords, le reste est recouvert d'un dépôt blanchâtre. Les gencives sont légèrement tuméfiées.

A la percussion du thorax, la tonalité est un peu augmentée sous la clavicule gauche et, dans le dos, on entend des sibilances disséminées, sauf aux deux bases où la respiration est normale.

La pointe du cœur est perceptible dans le VI[e] espace gauche, un peu en dehors du mamelon, les bruits diminués d'intensité, le pouls bat régulièrement à 100-120 par minute.

Le foie, augmenté de volume, s'étend du V[e] espace droit jusque sous les côtes, où il devient palpable dans les inspirations profondes. La palpation est douloureuse.

La rate n'est décelable ni à la palpation, ni à la percussion.

A l'examen du système nerveux, on trouve l'exagération des réflexes tendineux des membres inférieurs.

Le 8 janvier, apparaissent des maux de gorge avec soif intense et salivation abondante. Les ganglions sous-maxillaires sont tuméfiés à gauche. Les articulations du membre supérieur droit et des membres inférieurs sont douloureuses.

Le 9 janvier, on note de fortes douleurs le long du paquet vasculaire du membre inférieur gauche, et la cyanose des téguments, en bande, le long des vaisseaux.

Le 11 janvier, les douleurs du membre supérieur droit ont disparu.

Le 12 janvier, apparaissent des selles de plus en plus hémorragiques, ainsi que des gingivorragies. Sur la langue, on remarque deux nodules un peu surélevés, circulaires, situés l'un au bout et l'autre à la base gauche. Ils sont couverts d'une couche d'aspect villeux, épaisse, vert noirâtre.

Le 13 janvier, le nez et la lèvre supérieure sont déformés par un œdème blanc, indolore, sans bourrelet.

Le 14 janvier, on constate l'apparition de taches purpuriques sur les jambes, et d'un œdème de la jambe gauche plus prononcé à la cheville.

Le sang contient 2.660.000 hématies, 35.000 leucocytes par millimètre cube. La formule sanguine :

Polynucléaires neutrophiles	70 %
Mononucléaires	7 »
Lymphocytes	21 »
Myélocytes	1 »

Le 15 janvier, l'œdème de la face, qui était en voie de disparition, reprend d'intensité, s'étendant aux oreilles et au cuir chevelu. La tête a un aspect monstrueux.

Les téguments jaunes, cireux, non douloureux, gardent l'impression du doigt.

L'appétit, diminué, n'est pas disparu et le malade, très affaibli, prétend se sentir moins mal qu'il ne paraît.

Il a parfois des vomissements alimentaires et une diarrhée s'installe, modérée, à deux-trois selles par jour souvent sanglantes et très fétides. Des taches purpuriques sont visibles sur le dos des mains et aux coudes.

Le 18 janvier 1938, on constate l'apparition de lésions pustuleuses et ulcérées sur la joue droite et le cou, dont l'aspect a fait craindre la morve, et le malade est transféré le jour même dans notre service de maladies contagieuses. Ces lésions, disposées en séries linéaires sur plusieurs rangs, débutent autour d'un follicule pileux par une petite papulo-vésicule contenant une gouttelette de liquide trouble, et s'étendent circulairement jusqu'à atteindre les dimensions d'une lentille ou plus. Le centre ombiliqué est couvert d'une croûte traversée par un poil, et la périphérie est entourée d'une petite auréole rosée, légèrement surélevée. Elle s'ulcèrent, laissant à nu le fond cupuliforme, sale, purulent. On observe des ulcérations semblables sur le pourtour des narines, où leur configuration est plus irrégulière par le fait de leur confluence.

Toutes ces lésions ont un aspect très particulier qui, ainsi que l'aspect du malade et son jetage nasal, justifient assez l'égarement du diagnostic.

Nous avons constaté l'extension de l'œdème qui rend la tête monstrueuse, ainsi que l'état très grave du malade, dont la fièvre augmente progressivement. Les lèvres se fendillent et s'ulcèrent et les gencives tuméfiées, avec dépôts fuligineux, saignent constamment. La langue sèche, gonflée, est recouverte jusqu'à la base d'une couche sale cendré verdâtre, qui agglutine les papilles très allongées, velvétiques.

Les nodules déjà décrits sont devenus plus gros, 2 centimètres de diamètre, ronds, plats et un peu surélevés, ayant une base profonde, indurée. La surface, très sale, est formée d'un tissu nécrosé, spongieux, adhérent. Les amygdales sont grosses, cryptiques, sales. L'haleine est extrêmement fétide. La même odeur se dégage de tout son corps, et dans la chambre tout est imprégné de cette puanteur.

L'abdomen est douloureux, ballonné et contracturé en même temps, et on peut voir des arborisations veineuses surtout aux flancs. La matité hépatique est diparue.

Le malade a eu plusieurs vomito-negros et melæna d'une fétidité horrible.

Le sang contient 2.640.000 hématies, 25.000 leucocytes par millimètre cube et 70 % d'hémoglobine.

La formule sanguine :

Polynucléaires neutrophiles	70 %
Mononucléaires	1 »
Lymphocytes	28 »
Cellules embryonnaires	1 »

Les urines rares, très foncées, ne contiennent pas d'albumine et on ne trouve rien d'anormal dans le sédiment.

Il n'y a plus d'œdème aux membres inférieurs et les douleurs n'existent plus.

La température, entre 37-38°5, les deux dernières semaines, monte progressivement jusqu'à 39°6, les trois derniers jours. Il succombe le 20 janvier, après cinquante jours de maladie.

L'état septicémique du malade, les lésions nécrotiques buccales, ainsi que l'odeur extrêmement fétide, nous ont fait diagnostiquer une infection à anaérobies. En vérité, l'hémoculture pratiquée trois fois, les 18, 19 et 20 janvier, s'est montrée par deux fois positive, celle du 19 restant négative.

On y a trouvé, à l'état pur, un microbe anaérobie dont les caractères morphologiques, culturaux et l'action pathogène pour le lapin, nous obligent à l'identifier au *Bacillus funduliformis*. Nous allons publier ultérieurement l'étude biologique de cette souche.

Notons néanmoins certaines de ses particularités. L'hémoculture (20 centimètres cubes de sang) faite en ballon, dans la peptone Martin glucosée à 2 ‰, avec de petits cubes de foie, donne une végétation très abondante et rapide (24 heures), avec dégagement de gaz et l'altération du caillot qui prend une couleur sale gris verdâtre, farci de bulles. Les passages ultérieurs confirment le peu d'exigence du microbe quant à l'anaérobiose. Sa vitalité est remarquable; les cultures scellées, conservées pendant douze mois dans le laboratoire, poussent après repiquage tout aussi vigoureusement qu'au début.

L'action pathogène pour le lapin est constante, mais moins spécifique dans ses déterminations que pour les souches étudiées par M. Teissier, M.-A. Lumière, Reilly, etc., dans le sens que les organes les plus atteints ne sont pas toujours les mêmes, variant d'un lapin à l'autre. Pourtant, pour peu que la mort de l'animal soit un peu tardive, on trouve sûrement la nécrose de la moelle des os longs, qui est réduite en un magma gris sale, très fétide.

Les cultures sur les milieux artificiels, tout comme les organes des animaux autopsiés, dégagent une odeur très forte, fétide, à un moindre degré pourtant que celle de notre malade.

Le même microbe a été trouvé associé à un staphylocoque blanc, dans les pustules cervicales et à l'état pur, à l'autopsie, dans le cœur, le poumon, la rate, l'appendice et la vésicule biliaire.

A l'autopsie, pratiquée dix heures après la mort, on a trouvé :

Infiltration œdémateuse de la région présternale.

La langue sèche, racornie, tuméfiée, est noirâtre et velvétique dans sa partie médiane et vers la base. En plus, il y a deux noyaux à surface ulcérée sur une étendue de 2 centimètres en diamètre, situés l'un à la pointe, l'autre sur le bord gauche, à la base, un peu plus noirs que du vivant du malade.

Les gencives tuméfiées, sphacéliques, saignantes. Les amygdales sont grosses, cryptiques et couvertes d'un pus verdâtre.

La luette tuméfiée est dépolie vers la pointe. La muqueuse du pharynx est tuméfiée et soulevée par de nombreux follicules hypertrophiés.

L'épiglotte a une petite ulcération sur son bord libre.

La muqueuse du larynx, de la trachée et des grosses bronches est couverte de muco-pus. Elle est épaissie irrégulièrement, ce qui la fait apparaître granuleuse. Certaines de ces granulations sont centrées par de petites ulcérations cupuliformes, plus visibles dans les grosses bronches. Aux deux sommets, on trouve des adhérences pleurales, ainsi qu'à la base droite qui est intimement soudée au diaphragme. Pas de liquide dans les plèvres. Les poumons sont noirs, très anthracotiques, aérés. La surface de section est parsemée de petits bouchons de pus. Le lobe inférieur droit contient, dans le centre et très près du diaphragme, une masse dure de la grosseur d'une mandarine. A la section, elle apparaît formée par une infiltration diffuse enclavant plusieurs nodules de la grosseur d'une noix sèche, de coloration gris clair et de consistance élastique, ferme.

Le tout est entouré par le parenchyme pulmonaire noir, anthracotique. Un de ces nodules est ramolli, transformé en pus noir fétide, épais. Après son évacuation, on peut voir les parois de la cavité, irrégulières, caséeuses. A son niveau, la plèvre est très épaissie et soudée au diaphragme.

Le cœur est grand, mou, étalé. Le myocarde est brun, les cavités pleines de caillots cruoriques. L'endocarde et les valvules sont normaux. L'artère pulmonaire et l'aorte sont parfaitement normales.

Tout le système ganglionnaire est hypertrophié, mais les ganglions hilaires sont les plus touchés.

L'estomac est rétracté, refoulé par la masse intestinale sans

lésions visibles, sauf quelques suffusions sanguines dans la région fundique et vers le cardia.

L'intestin est dilaté et les anses agglutinées entre elles et avec le grand épiploon, sont criblées d'innombrables ulcérations visibles à travers la séreuse. Ces ulcérations, petites, ponctiformes, ou bien larges de 6-7 millimètres de diamètre, sont en grande partie perforées; elles ont un nombre extraordinairement grand de perforations, sont couvertes de bouchons d'épiploon ou bien collées à une anse voisine avec laquelle elles communiquent parfois. On trouve aussi d'autres lésions d'aspect nécrotique, blanc sale ou vert noirâtre en voie de perforation. A travers l'intestin distendu, on voit par transparence une multitude de granulations blanchâtres.

La cavité intestinale est remplie par un magma puriforme vert noirâtre, fétide. La muqueuse du grêle est altérée dans toute son étendue, boursouflée entre les ulcérations plus ou moins profondes, confluentes, qui prédominent dans la moitié cæcale de l'iléon. Le cæcum, rempli de la même matière puriforme fétide, est presque tout aussi endommagé que l'iléon.

L'appendice, ascendant, est petit, son aspect est normal.

Les ganglions mésentériques sont congestionnés, tuméfiés, sans être ramollis.

Dans la cavité péritonéale, on trouve un peu de liquide louche, avant que les manœuvres opératoires ne fassent se déverser le contenu intestinal par les ulcérations décollées ou par les déchirures des anses trop friables.

Le foie est grand et dur, mais friable. La section est de couleur vert olive tachée de jaune pâle. La vésicule biliaire est vide.

La rate est modérément grosse, adhérente aux organes voisins. Elle est dure, de consistance inégale à cause de nombreux nodules roses et très durs, qui ressortent légèrement en relief sur le fond du parenchyme rouge sombre. A la section, ces nodules, ronds ou triangulaires et blancs, donnent l'image typique de « rate porphyre ».

Les reins sont gros et pâles, la capsule s'enlève facilement.

Sur la surface de section qui apparaît un peu boursouflée, la corticale, pâle, est épaissie et les pyramides sont bien dessinées, contournées par des vaisseaux dilatés.

Le rein droit est plus touché que le gauche.

Les glandes surrénales sont plus volumineuses que normalement. La substance corticale est très épaissie, blanchâtre, la médullaire est conservée.

On a fait des coupes histologiques de ces organes prélevés à l'autopsie.

Les ulcérations linguales sont constituées d'une masse amorphe, épaisse de 5-10 millimètres, profondément crevassée, dans laquelle on peut encore identifier des traces de fibres musculaires et de rares anneaux élastiques, vestiges de vaisseaux. Il n'y a pas trace de noyaux. La couche superficielle contient un feutrage très serré de coccobacilles et bacilles filamenteux, Gram négatifs, qui se retrouvent avec les mêmes caractères dans tous les autres organes. Ils sont semblables aux bacilles trouvés dans les pustules et ulcérations cutanées, ainsi que dans les frottis de cultures.

Immédiatement en-dessous de la zone nécrotique, il y a une couche de noyaux en pycnose qui la sépare de la zone d'inflammation, qui se prolonge profondément dans les couches musculaires et qui constitue la base indurée de ces nodules.

C'est là que prédominent la réaction des cellules histiocytaires et l'infiltration lympho et plasmocytaire. Les capillaires sont dilatés et les artérioles sont atteintes d'endartérite desquamative. Il y a un degré prononcé d'œdème et de dépôts de fibrine en faisceaux filamenteux ou en amas. Les fibres musculaires sont en dégénérescence vitreuse. Les follicules lymphatiques de la base de la langue sont très hypertrophiés, entourés de vaisseaux dilatés. Le derme sous-muqueux est bourré de lymphocytes et de plasmocytes auxquels se joint la réaction des cellules fixes. Cette infiltration est très dense et, par endroit, elle conflue avec les follicules au point de rappeler l'image d'un organe lymphoïde, en même temps que la muqueuse s'ulcère.

Des lésions tout à fait semblables parsèment tous les organes à revêtement muqueux : luette, pharynx, épiglotte, trachée et grosses bronches. Il y a la même infiltration lympho-plasmocytaire avec œdème parfois très accentué et l'inflammation du tissu conjonctif, tandis que la muqueuse se nécrose et s'ulcère. Le fond de ces ulcérations est couvert d'un feutrage microbien.

Les amygdales sont très hypertrophiées. Elles paraissent formées de tissu lymphoïde exagérément développé, avec un grand nombre de plasmocytes. Les cryptes extrêmement profondes, en fente, contiennent des cellules épithéliales desquamées, des noyaux pycnotiques et de nombreux coccobacilles. Dans un seul point, on a trouvé un abcès minuscule et superficiel, ouvert à l'extérieur, contenant très peu de ces microbes.

Le poumon, à part l'induration nodulaire de la base droite,

n'offre rien de particulier, sinon une anthracose accentuée (le malade était forgeron).

Les gros nodules, qui offraient à l'œil nu un aspect homogène, apparaissent au microscope comme atteints par deux catégories de lésions bien distinctes :

1° Des plages de nécrose faiblement oxyphiles, mal colorées, d'une étendue variant de 1 centimètre de diamètre à moins de 1 millimètre. Le centre, complètement détruit, est représenté par quelques débris anhystes, mais parfois on y reconnaît le squelette élastique d'un vaisseau ou bien un vaisseau oblitéré. Vers la périphérie, la texture est plus facilement reconnaissable, c'est la zone des noyaux en pycnose avancée. Les bords irréguliers de ces plages se perdent sans trop de démarcation dans les tissus environnants, et c'est plutôt par leur oxyphilie que l'on peut les distinguer. Pourtant, par endroits, les limites sont plus nettes, la zone de nécrose étant entourée d'une couronne lymphocytaire qu'accompagne une énorme dilatation vasculaire.

2° Le tissu intermédiaire, bien colorable, n'est pourtant pas normal. Il y a une suite ininterrompue de lésions alvéolaires de toutes espèces : alvéolites œdémateuse, séro-fibrineuse, desquamative, fibrineuse, auxquelles s'ajoute la prolifération du tissu conjonctif interstitiel qui envahit un grand nombre d'alvéoles et bouleverse parfois complètement l'architecture de l'organe. Par endroits, on peut rencontrer quelques alvéoles atélectasiées qui ont échappé au processus inflammatoire. Ce qui frappe, en plus de la fibrose, c'est l'infiltration plasmocytaire, en amas ou en chapelet, présente ici comme dans tous les organes atteints, ainsi que l'absence des polynucléaires qui n'apparaissent que dans les foyers suppurés péribronchiques. On trouve aussi quelques cellules géantes polynucléées, enclavant parfois des blocs de pigment sanguin ou de granules de charbon, disséminées sans ordre, isolément et sans être entourées par quelque amas lymphocytaire. Les bacilles acido-alcoolo-résistants font défaut.

Les bronches sont très altérées, les petites comme les grosses. La cavité contient du mucus de débris cellulaires et de globules de pus. La muqueuse disloquée, fragmentée ou bien complètement disparue, laisse à nu le derme très épaissi par l'œdème et l'infiltration leucocytaire qui forme de véritables abcès ouverts dans la cavité. Ils se prolongent autour de la bronche, au delà de la charpente cartilagineuse, et sont farcis de microbes ayant les caractères déjà décrits.

Ces noyaux de bronchopneumonie ont un aspect caractéristique qui les rend reconnaissables même s'ils sont envahis par les zones de nécrose.

Les vaisseaux sanguins sont aussi profondément touchés. Les artérioles ont leur lumière réduite ou bien comblée par l'endartérite, la couche conjonctive périartérielle est épaissie et souvent tatouée par l'anthracose. Les petits vaisseaux sont dilatés et parfois déchirés, le sang infiltrant les septa et les alvéoles, surtout autour de noyaux bronchopneumoniques.

Toutes ces lésions, parfaitement visibles dans la zone intermédiaire, sont parfois reconnaissables aisément dans les plages nécrotiques même.

Au premier coup d'œil, les coupes des nodules pulmonaires sont très semblables à celles de la rate, les seuls organes atteints d'infarctus.

Le cœur a des lésions diffuses. Les fibres sous-endocardiques sont parfois vacuolisées ou en état de dégénérescence vitreuse. Les cellules musculaires perdent, par endroits, leurs traits scalariformes et les fibrilles sont dissociées. Le tissu conjonctif interfasciculaire est œdématié, les capillaires dilatés. De rares artérioles présentent des lésions d'endartérite oblitérante.

Le foie conserve son architecture lobulaire. La veine centrolobulaire est distendue, les capillaires rayonnants sont gorgés de sang. Les espaces portes sont élargis par la turgescence considérable des veines, l'infiltration lymphocytaire étant très discrète. Les travées sont partout un peu espacées par la dilatation des capillaires intertrabéculaires et l'hyperplasie des cellules de Kupffer, bourrées de pigment ferrique.

Les cellules hépatiques, bien colorables, sont remplies de granulations fuchsinophiles et, aux deux pôles du lobule, autour de la veine centrale ainsi que vers l'espace porte, elles sont chargées de blocs de pigment biliaire jaune verdâtre. On trouve fréquemment des bacilles isolés ou en amas, dans des veines dilatées de l'espace porte, et moins souvent dans les capillaires intertrabéculaires.

Intestin : Le revêtement épithélial de l'iléon est tombé en grande partie, laissant à nu la charpente conjonctive des villosités. Œdème, prolifération de cellules fixes, infiltration lympho et plasmocytaire, ainsi que tromboses veineuses et desquamation endothéliale des artérioles, s'étendent dans toute l'épaisseur de la paroi intestinale, précédant la nécrose ulcérative. Les bouchons épiploïques, soudés aux ulcérations, continuent, au delà d'une

couche épaisse de fibrine, l'infiltration plasmocytaire et la réaction histiocytaire commune aux lésions décrites. Les bacilles foisonnent dans les ulcérations.

L'appendice subit la même infiltration à un moindre degré qui n'aboutit pas à l'ulcération.

La rate a la capsule épaissie. Les follicules sont hyperplasiés, ainsi que les cordons spléniques où l'on observe une prolifération cellulaire active avec, par endroits, une tendance fibrosante très nette. Les plasmocytes, en grand nombre, comme partout, sont agglomérés en nids autour des vaisseaux et des trabécules conjonctifs. Les sinus, dilatés, sont gorgés de sang. Les noyaux d'infarctus, caractérisant cette « rate porphyre », se traduisent sur la coupe par des îlots de nécrose légèrement oxyphile à centre désorganisé et à contours irréguliers. Leur étendue varie de la grandeur d'une noisette à celle d'un follicule splénique. Ils contiennent des noyaux pycnotiques et des amas grossiers de fibrine qui se retrouvent dans certains follicules par ailleurs parfaitement constitués. Autour des îlots nécrotiques, les vaisseaux sont gorgés de sang. Rien ne ressemble mieux à ces infarctus de la rate que les coupes des nodules pulmonaires.

Dans les vaisseaux sanguins et moins souvent dans les sinus, on voit des bacilles, Gram négatifs, qui gardent ici leur forme thétholde comme nulle part ailleurs. Tout comme dans le poumon, on ne les trouve guère dans les zones de nécrose.

Il y a aussi du pigment sanguin en dépôts brunâtres qui ne donne pas la réaction du fer, du pigment ferrique enclavé dans les macrophages, ainsi que des granules de charbon.

Les ganglions mésentériques sont très inflammés. L'hyperplasie du tissu lymphoïde les transforme en larges cordons farcis de plasmocytes. Les sinus sont très élargis, bourrés d'endothéliums desquamés, en voie de macrophagie. Il y a de rares polynucléaires. Les vaisseaux lymphatiques et sanguins du centre ganglionnaire sont énormément dilatés.

Les reins sont atteints de lésions épithéliales discrètes avec quelques rares cylindres hyalins. Les glomérules sont turgescents avec les capillaires dilatés. Les vaisseaux de la zone pyramidale sont gorgés de sang. Il y a des hémorragies intertubulaires et de rares noyaux très réduits d'infiltration lymphocytaire interstitielle.

Les ulcérations cutanées sont calquées sur celles des muqueuses. L'épiderme a disparu, le derme est infiltré par des lymphocytes, des polynucléaires et des plasmocytes en plus de la

réaction de cellules conjonctives. L'infiltration s'étend au loin par des manchons périvasculaires, périglandulaires, et le long des septa conjonctifs.

Ce cas de septicémie à *Bacillus funduliformis* est intéressant par les particularités cliniques et anatomo-pathologiques, qui changent un peu le tableau devenu classique à la suite des publications de M. Teissier, M. A. Lemierre, sur les infections médicales, ainsi que celles des auteurs américains sur les infections d'ordre chirurgical.

Du point de vue clinique, le début infectieux banal avec frissons, point de côté, arthralgies et déglobulisation intense, n'offre rien de caractéristique. Ce qui singularise notre cas, c'est l'aspect des ulcérations cutanées, l'œdème monstrueux de la tête et surtout le syndrome intestinal. Vomito-negro et melæna, d'une fétidité horrible, sont bien des manifestations non encore enregistrées au courant de cette maladie.

Anatomiquement, l'atteinte de l'appareil digestif prédomine les multiples déterminations lésionnaires rencontrées. La multitude extraordinaire des ulcérations et perforations intestinales, tout comme les nombreux infarctus de la rate, ne sont pas communs non plus. Les microbes ont été trouvés dans la plupart des organes dont la réaction à tendance fibrosante et l'infiltration plasmocytaire constante constituent autant de caractères distinctifs. L'évolution plutôt longue de la maladie y est peut-être pour quelque chose.

Mais, en dépit de l'étendue des lésions intestinales, le foie ne paraît pas trop endommagé et il n'y a pas trace d'abcès. D'un autre côté, l'atteinte de l'amygdale, bien peu remarquable par rapport aux lésions des autres organes, n'oblige pas à penser que c'est là le point de pénétration du microbe, malgré l'existence de lésions de l'arbre respiratoire et d'infarctus pulmonaires. La succession des phénomènes cliniques ne nous aide pas non plus à l'éclaircissement de ce problème.

Quoi qu'il en soit, il ne ressort pas moins clairement que, à côté de formes décrites dans la septicémie à *Bacillus funduliformis*, il y a bien à noter la forme à prédominance intestinale.

NOTES SUR LA RAGE

par

Démètre JONNESCO

(Travail de l'Institut Cantacuzino, Section antirabique)

I. — *RECHERCHES SUR LA VIRULENCE DU VIRUS RABIQUE DE RUE EN ROUMANIE*

Ces temps derniers, nous avons étudié, à diverses reprises, la question de la virulence du virus rabique de rue en Roumanie.

Nous avons identifié (1) un virus provenant d'un loup, avec incubation fixe par voie intracérébrale dès le premier passage : deux jours pour le cobaye, trois jours pour le lapin, quatre jours pour le chien.

Dans une autre série de recherches (2), nous avons établi que sur 30 cas de rage présentés en série pour études de diagnostic, 10 % sont des virus renforcés, ce qui représente assurément un pourcentage assez élevé.

A une autre occasion (3), sur 25 cas de rage chez des animaux, 14 ont présenté des incubations courtes de 5 à 14 jours.

En 1938 (4), nous avons étudié 4 souches de virus rabique isolées des cas pour lesquels le traitement antirabique a échoué, et nous avons constaté qu'il n'y a pas de parallélisme entre la durée de l'incubation chez l'homme et celle du premier passage chez le lapin, et surtout que le degré d'agressivité d'un virus

(1) Jonnesco (D.) : « Recherches sur le virus rabique de rue à virulence renforcée. » (*Ann. de l'Inst. Pasteur*, t. XLIX, 1932, p. 435.)

(2) Jonnesco (D.) : « Diagnostic de la rage au moyen de l'inoculation intracaudale chez la souris. » (*C. R. Soc. Biol.*, t. CXVI, 1934, p. 545.)

(3) Jonnesco (D.) : « La virulence du virus rabique de rue en Roumanie. » (*Bull. Inst. Babeş*, n° 2, 1937, p. 5.)

(4) Jonnesco (D.) : « Etudes sur quatre souches de virus de rue isolées de cas où le traitement antirabique a échoué. » (*Ann. de l'Inst. Pasteur*, t. 61, 1938, p. 527.)

doit être jugé d'après son pouvoir de se fixer plus ou moins rapidement sur le lapin.

Dans la plupart des régions du monde, l'incubation, chez les lapins inoculés au virus de rue, varie entre 15 et 30 jours et peut même atteindre plusieurs mois.

Dans certains pays, on cite assez rarement la présence de virus « renforcés », avec incubations aussi courtes que celles du virus fixe (P. Remlinger, d'Amato, etc.).

Ayant en vue mes observations antérieures, lorsque j'ai constaté chez nous de fréquentes incubations extrêmement courtes chez des lapins inoculés au virus de rue, j'ai repris ces recherches en 1938.

Du 1er juin à la fin de décembre 1938, j'ai étudié 31 virus de rue provenant d'animaux dans leur ordre de présentation à l'analyse histo-pathologique, en précisant, chaque fois que la chose a été possible, la durée de l'incubation par inoculations intracérébrales chez les lapins.

Le tableau ci-joint permet les conclusions suivantes :

1. — La durée moyenne de l'incubation des virus rabiques de rue étudiés est de 11.03 jours, pour les lapins inoculés par voie intracérébrale.

2. — Sur 31 cas étudiés, nous avons trouvé 28 virus de rue avec incubations de moins de 15 jours, dont 7 présentant des incubations de moins de 10 jours.

3. — Deux virus, sur 31, présentent les caractères du virus fixe, avec fixité dans la durée de l'incubation dès le premier passage : 4 jours dans le cas n° 20 et 3 jours dans le cas n° 29.

4. — Ce qui caractérise surtout le pouvoir d'agressivité d'un virus, c'est la rapidité avec laquelle il se fixe sur l'encéphale du lapin en devenant du virus fixe.

Sur les 31 cas étudiés, 11 virus de rue deviennent des virus fixes dès le second passage, perdant le caractère de la formation des corps de Negri et fixant leur incubation.

Les données établies ci-dessus nous indiquent la virulence excessive de l'agent spécifique autochtone, vu qu'il s'agit souvent de virus renforcés, fixés de manière naturelle, par des passages successifs d'un animal à l'autre.

TABLEAU DES VIRUS DE RUE ÉTUDIÉS

N°s des cas	Espèce animale	Localité	Présence de corps de Négri	Ier passage. Durée de l'incubation chez le lapin inoculé par voie intra-cérébrale	Présence de corps de Négri	IIe passage	Présence de corps de Négri	IIIe passage	Présence de corps de Négri	IVe passage
				Jours		Jours		Jours		Jours
1.	Chien.	Bacău	——	11	——	8	——	7	——	
2.	»	Bucarest	——	10	——	6	——	6	——	
3.	»	Oltenița	++++	11	++	15	++	11	+	
4.	»	Bucarest	——	12	——	7	——	7	—	
5.	»	Bacău	——	14	——	13	——	12	——	
6.	»	C. Lung	++++	15	++++	18	++++	14	+++	
7.	»	Dâmbovița	——	5	——	3	——	3	——	3—
8.	»	Făgăraș	+++	11	++++	6	——	6	——	6—
9.	»	Bucarest	+++	11	+++	8	++	13	+	5—
10.	»	Bucarest	+++	11	+++	11	+++	8	++	
11.	»	Oltenița	+++	12	++	3	——	3	——	
12.	»	Bucarest	+++	16	+++	14	+++	13	++	
13.	»	Slatina	+++	14	+++	11	+++	9	++	
14.	»	Urziceni	+++	16	+++	14	+++	14	+++	
15.	»	Bucarest	++	10	++	8	——	7	——	
16.	»	Ploești	+++	8	+	5	——	5	——	
17.	»	Brașov	+++	12	+	4	——	4	——	
18.	»	Bucarest	+++	12	++	10	+	10	+	
19.	Chat.	Constanța	——	14	——	8	——	7	——	
20.	Chien.	Filiași	——	4	——	4	——	4	——	
21.	»	Bucarest	++++	7	+	5	——	5	——	
22.	»	Brașov	——	13	——	10	——	10	——	
23.	»	Pitești	——	13	——	11	——	9	——	
24.	»	Bucarest	+++	13	++	12	++	12	++	
25.	»	Bucarest	+++	13	++	9	+	7	——	
26.	»	Bucarest	——	9	——	8	——	6	——	
27.	»	Durostor	+++	13	++++	13	+++	10	++	
28.	»	Prahova	——	11	——	10	——	10	——	
29.	»	Brezoi	+++	3	——	3	——	3	——	
30.	»	Ploești	+++	13	——	3	——	3	——	
31.	»	Bucarest	+++	5	——	3	——	3	——	

II. — *ÉRUPTIONS PAPULO-VÉSICULEUSES GÉNÉRALISÉES PENDANT LE TRAITEMENT ANTIRABIQUE*

Assurément, les accidents locaux ou généralisés du traitement antirabique ne présentent qu'un intérêt limité et ne constituent pas une contre-indication; toutefois, ils mettent en discussion d'importants problèmes de pathologie et plusieurs questions d'intérêt pratique.

Différentes éruptions et accidents locaux ont été observés, de manière exceptionnellement rare, pendant la durée du traitement antirabique.

Le plus fréquemment, j'ai observé des plaques érythémateuses au point d'inoculation (probablement une réaction de la peau de nature anaphylactique), réactions qui apparaissent d'habitude après une période de sensibilisation de 6 à 8 jours à dater du commencement du traitement antirabique, et qui ne sont pas dues à des microbes. De même assez souvent, chez les hépatiques, apparaissent l'urticaire et le prurit.

J'ai rarement observé l'apparition brusque, entre les 6e et 8e jours de traitement antirabique, d'une éruption micro-papulo-vésiculeuse généralisée, durant environ 6 jours, accompagnée d'éosinophillie et tuméfaction des ganglions lymphatiques (1).

Exceptionnellement rarement, l'érythème localisé au point d'inoculation s'étend à toute la paroi abdominale et même se généralise avec élévation de température. Personnellement, je n'ai jamais observé de semblables complications. Toutefois, on cite un tel tableau clinique à Varsovie, en 1901, lequel a déterminé un érythème scarlatiniforme. L'explication de ces phénomènes a été trouvée dans l'emploi pour la préparation du vaccin d'un lapin que l'on avait cru sain, mais qui, en fait, avait été contaminé de *streptococcus conglomeratus*.

Toujours de manière exceptionnelle, on a signalé, dans quelques Instituts, la possibilité de développement d'un abcès chaud au point d'inoculation. Ces abcès, s'ils sont de nature microbienne (staphylocoque, streptocoque), sont sans doute favorisés, la plupart du temps, par l'introduction sous-cutanée, inévitable, de par-

(1) Jonnesco (Démètre) : « Eruption micro-papulo-vésiculeuse généralisée pendant le traitement antirabique. » (*Soc. Méd. des Hôpitaux*, Bucarest, n° 1, 1925.)

ticules de substance nerveuse, qui exercent l'action d'un corps étranger.

Il arrive souvent toutefois qu'il se produise, surtout chez les personnes obèses, des abcès torpides. Ces abcès se sentent au toucher comme de petites nodosités qui, généralement, se résorbent. D'autres fois elles peuvent s'ouvrir, ont une évolution de longue durée et sont amicrobiennes. Heureusement, elles sont tout à fait exceptionnelles. Elles sont dues à la résorption difficile de la suspension de substance nerveuse dans un tissu peu vascularisé et obèse.

Le vaccin antirabique, étant une émulsion de substance nerveuse, n'est pas du tout indifférent pour un organisme souffrant quand on lui administre ce vaccin par voie sous-cutanée. Surtout ceux qui souffrent des reins, les vieillards scléreux et hypertensifs, urémiques, qui n'ont pas la permission d'ingérer de la viande, l'introduction par voie parentérale de l'albuminoïde le plus complexe, la substance nerveuse, produira certainement l'accentuation des phénomènes morbides existants. Souvent, chez les vieillards scléreux ou chez ceux qui souffrent des reins, nous avons observé, pendant le traitement antirabique, des étourdissements, de l'insomnie, de l'albuminurie, élévation de la tension artérielle, amaigrissement.

Nous n'avons indiqué que quelques-uns des troubles les plus importants qui apparaissent par suite de l'application du traitement antirabique, pour mettre en évidence que, dans un service antirabique, il est très nécessaire de connaître la personne que l'on traite, aussi bien au point de vue clinique; on évitera ainsi, autant que possible, d'éventuelles complications désagréables.

Ces temps derniers, j'ai eu l'occasion d'étudier 3 cas d'éruptions papulo-vésiculeuses apparues pendant le traitement antirabique. Etant donnée la rareté de ces cas, ainsi que l'interprétation qu'on leur peut donner, j'ai cru utile de présenter ces observations.

Observation 1. — P. I..., âgée de trois ans et demi, mordue profondément par un chien enragé dans la région suprascapulaire gauche et dans la région abdominale; trois morsures superficielles. Commence le traitement un jour après les morsures. Au sixième jour de traitement (fig. 1) apparaît une éruption généralisée macro-papuleuse, avec de rares vésicules, précédée d'un prurit intense. La fièvre, sans frissons, dure quatre jours, entre 39 et 40° C., puis tombe lentement en trois jours. Céphalées,

inappétence, état saburral de la langue, légère constipation. Pendant ce temps, les ganglions inguinaux et axillaires paraissent agrandis de volume et un peu douloureux.

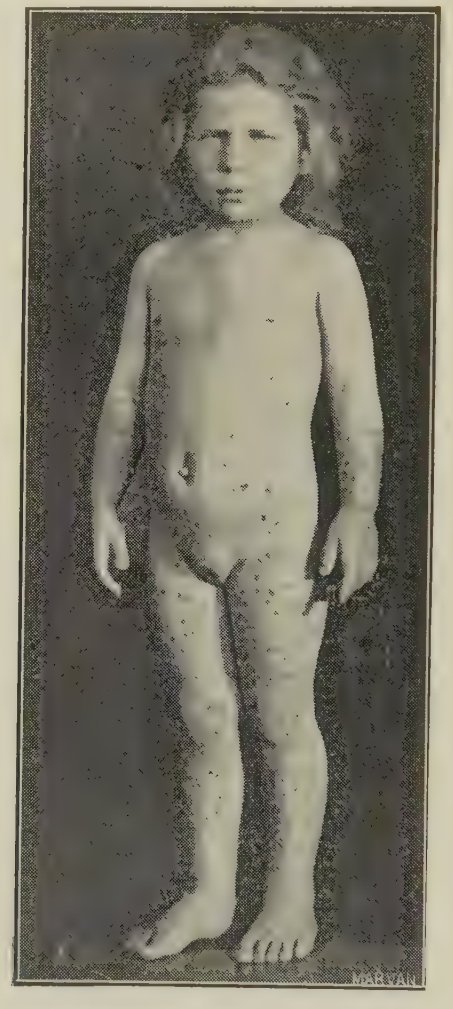


Fig. 1. — P. I...

Les papules, d'un volume variant de la grosseur d'une tête d'épingle à celle d'une lentille, sont localisées sur l'abdomen, les avant-bras, les mains et les membres inférieurs. Les éléments

papuleux sont, d'habitude, isolés, rarement agglomérés. Au bout de deux jours apparaissent des vésicules dont le contenu se résorbe ou se couvre d'une croûte. L'hémoculture, faite dans des milieux aérobies ou anaérobies, a donné à trois reprises un résultat négatif.

Pendant la fièvre, l'examen leucocytaire nous donne :

Nombre des leucocytes par mm³	*16.000*	
Polynucléaires neutrophiles	70	%
» éosinophiles	*8*	»
» basophiles	0,5	»
Lymphocytes	20	»
Monocytes	1,5	»

En même temps que la disparition des papules et des vésicules, disparaissent aussi la leucocytose et l'éosinophilie.

Observation 2. — I. I..., cinquante-quatre ans, Constantza. Région postérieure de l'avant-bras droit, multiples morsures profondes faites par un chien enragé. Le sixième jour de traitement (fig. 2), apparaissent des éruptions généralisées, macro-papuleuses, accompagnées de prurit et de fièvre (39-40° C.) qui dure quatre jours. Tension artérielle au Pachon-Gallavardin: Max.=11; Min. = 6. Tuméfaction des ganglions lymphatiques, axillaires et inguinaux. Céphalées, inappétence, légère constipation, indisposition et arthralgies. Pendant toute la durée de la fièvre, nous avons constaté une légère exophtalmie et un érythème accentué de la face, lequel disparaît au bout de quatre ou cinq jours. La température baisse graduellement et arrive à la normale après sept jours de maladie.

En même temps que l'abaissement de la température et la disparition des papules et des petites vésicules, apparaissent, sur la région antérieure des jambes, de grandes vésicules hémisphériques, transparentes, arrivant à la grosseur d'une cerise. Dans le liquide de ces bulles, nous avons trouvé des cellules épithéliales, des leucocytes et des granulations sans microbes. Au bout de deux à trois jours, ces bulles crèvent et laissent voir à leur place une exulcération qui ne guérit qu'au bout de trois ou quatre autres jours.

Pendant la fièvre, l'hémoculture, faite dans des milieux aérobies et anaérobies, a donné un résultat *négatif*. L'examen des leucocytes, pratiqué à ce moment, nous donne :

Leucocytes par mm³	*18.500*	
Polynucléaires neutrophiles	74.5	%
» éosinophiles	9	»
» basophiles	0.5	»
Lymphocytes	15	»
Monocytes	1	»

Fig. 2. — I. I...

On n'a pas trouvé de formes anormales. Le nombre des leucocytes et des éosinophiles revient à la normale après la disparition de la fièvre.

Observation 3. — J. S..., vingt-trois ans. Craïova. Mordu superficiellement par un chat enragé dans la région achilléenne gauche. On commence les injections antirabiques au huitième jour après la morsure.

Après six jours de traitement, apparaissent des macro-papulo-vésicules généralisées sur tout le corps, mais surtout sur le visage (fig. 3). Particulièrement les lèvres, supérieure et infé-

Fig. 3. — J. S...

rieure, sont fortement œdémateuses, avec de nombreuses papules et vésicules confluentes. Au bout de trois ou quatre jours, les vésicules crèvent et se couvrent de croûtes. Céphalées, constipation, fièvre (38-40° C.) durant trois jours pendant lesquels se maintient un prurit généralisé sur tout le corps, accompagné d'un léger œdème des paupières. Tuméfaction ganglionnaire, axillaires et inguinaux, un peu douloureuse à la pression. L'hémoculture, répétée, donne des résultats négatifs. Tension artérielle : Mx. = 10; Mn. = 5 (Pachon-Gallavardin). Après guérison, la tension s'élève : Mx. = 15; Mn. = 8.

Au cours de la fièvre, l'examen leucocytaire nous donne :

Leucocytes par mm³	*17.200*	
Polynucléaires neutrophiles	79	%
» éosinophiles	*10*	»
» basophiles	1	»
Lymphocytes	9	»
Monocytes	1	»

On n'a pas trouvé de formes anormales. Après la disparition de la fièvre, le nombre des leucocytes et des polynucléaires éosinophiles revient à la normale.

Dans tous ces trois cas, la vaccination antirabique a été pratiquée avec des émulsions de matière cérébrale - lapin - virus fixe, atténuées par la chaleur et émulsions de moelles atténuées par dessiccation.

On injecte donc ainsi, par voie sous-cutanée, les matières protéiques les plus complexes, contenues dans la substance nerveuse. Ces injections de matières protéiques hétérogènes produisent d'une manière tout à fait exceptionnelle, chez certaines personnes sensibles, des accidents passagers, d'ordre anaphylactique, comme ceux que l'on a décrits plus haut. Ces accidents apparaissent le sixième jour du traitement antirabique et sont caractérisés par des éruptions macro-papulo-vésiculeuses généralisées, accompagnées de prurit, fièvre, tuméfaction des ganglions lymphatiques, leucocytose, polynucléose et éosinophilie: abaissement de la tension artérielle.

Dans tous ces cas, les hémocultures ont été négatives et la guérison s'est produite à environ sept ou huit jours du début de la maladie.

Les rares phénomènes cliniques d'intolérance pendant la vaccination antirabique apparaissent d'habitude entre le cinquième et le huitième jour à dater du début du traitement, caractérisés, le plus souvent, par une plaque érythémateuse locale, et très exceptionnellement par des éruptions papulo-vésiculeuses généralisées.

CONTRIBUTION A L'ÉTUDE DE LA DISTRIBUTION DES RACES D'*ANOPHELES MACULIPENNIS* EN RAPPORT AVEC LES GRANDES LIGNES DE RÉPARTITION DU PALUDISME EN ROUMANIE

par

G. ZOTTA

CONSIDÉRATIONS GÉOGRAPHIQUES

Le territoire de la Roumanie, compris entre 42°18′ et 53°35′ long. E., et 45°15′ et 53°74′ lat. N., est sujet à un climat continental excessif, avec des écarts de température de 60 degrés.

La faune et la flore sont du type de l'Europe centrale, avec des liaisons nettes avec celles de la steppe russe d'un côté, avec la région méditerranéenne d'un autre côté, soit par le Dobrodgea à l'Est et par l'Olténie et le Banat à l'Ouest.

Les Carpathes constituent un axe en forme de S qui traverse le pays en son milieu de l'Ouest à l'Est et au N-NO. Une autre série de montagnes — M. apuseni — renferment entre elles et les Carpathes le plateau transsylvain, plaine souvent haute, traversée par un grand nombre de grandes rivières ayant le cours dirigé du N-S et de l'Est à l'Ouest. Le plateau transsylvain communique par de grandes trouées vers l'Ouest avec la plaine occidentale, qui se continue plus loin avec la plaine du Danube et celle de la Tissa en Hongrie.

Le reste du territoire comprend les grandes régions suivantes :

1. — Le plateau moldo-bessarabien comprenant la Bucovine, et les deux tiers septentrionaux de la Moldavie et de la Bessarabie, jusqu'à la dépression du Sud de Bîrlad. Ce vaste territoire s'ap-

puie à l'Ouest sur l'axe des Carpathes, par l'intermédiaire des collines sous-carpathiques, qui constituent les contreforts extérieurs des Carpathes vers le plateau moldave.

Ce territoire est pourvu d'un nœud de collines d'érosion jusqu'à 300-400 m. vers son centre, à direction N-S et NO-SE. Les cours d'eau extrêmement nombreux ont la même direction et ils drainent tout le territoire vers le Danube.

Tout le terrain entre ces collines, ainsi qu'en dehors d'elles, est plat et s'abaisse progressivement en allant au S et au SE. Le réseau des grandes rivières, — Siret, Prut, — avec tous leurs affluents extrêmement nombreux, est très vaste.

Tous les cours d'eau ont en général un caractère torrentiel dans leur premier tiers, pour devenir très lents et même paresseux pour le reste du parcours: celui-ci devient alors excessivement sinueux, les eaux se répandent tout autour et transforment en marécages de grandes étendues de terre. A l'époque des pluies, les inondations acquièrent souvent un caractère catastrophique.

Les collines et les terres basses, dans la plupart des cas, se sont dénudées complètement par suite de la destruction inconsidérée des forêts. Le résultat en est que, dans plus de la moitié de la Moldavie et de la Bessarabie, tout l'humus est charrié, à l'époque des pluies, vers les terres basses, dont le niveau s'élève sensiblement. En même temps, le lit des rivières s'élève également, ce qui fait que celles-ci débordent automatiquement dès que les précipitations deviennent un peu plus accusées et déterminent la constitution de foyers larvaires.

En plus de cela, dans beaucoup de départements de la région, les terres basses sont fortement infiltrées par des quantités d'eau de sources provenant des collines environnantes. Il se constitue ainsi de larges placards de terres marécageuses qui s'ajoutent aux foyers larvaires constitués le long des rivières.

Le résultat de tous ces détails est que l'immense majorité du territoire moldo-bessarabien possède une infinité de gîtes larvaires qui entretiennent un anophélisme universel.

2. — La dépression de la Munténie-Olténie représente un autre type orographique. C'est une vaste plaine qui s'appuie au Nord sur les collines sous-carpathiques et qui dévale lentement au Sud, vers la vallée du Danube dont elle est séparée, pour une bonne partie, par une véritable falaise qui borde la zone inondable du fleuve.

Cette plaine est pratiquement exempte d'accidents de terrain

proprement dits, sauf des vallonnements insignifiants qui la parcourent de place en place et qui représentent le plus souvent les dernières terrasses des cours d'eau qui les traversent (terrasses en éventail).

La partie orientale de cette plaine est une véritable steppe qui s'étend sur le département de Jalomitza et une partie du Brăila. Elle se continue vers le NE, le long de la rive gauche du Danube, avec le couloir correspondant à la dépression Sud du plateau moldo-bessarabien (Bugeac). C'est dans cette partie orientale de la Munténie que se trouve la steppe du Bărăgan, territoire mesurant environ 7.000 kilomètres carrés qui est bien connu par les botanistes.

La moitié occidentale de la dépression — vers l'Olténie — est un peu plus accidentée dans certains endroits, mais conserve en général son caractère de plaine plate.

Toute la dépression de la Munténie est traversée par un grand nombre de rivières qui, avec leurs affluents, constituent ici aussi un réseau considérable, dont la partie inférieure est toujours paresseuse et qui a beaucoup de méandres qui déterminent des zones inondables et inondées.

En plus, nous devons noter des zones de sols salés, resp. des collections de diverses grandeurs, à eaux saumâtres. Un grand nombre de ces collections se trouvent dans le Bărăgan, soit isolées, soit égrénées le long de la Jalomitza. D'autres collections du même type se rencontrent encore le long de la rivière de Buzeu, dans les départements de R. Sărat, Brăila. Plusieurs de ces bassins sont même utilisés dans des buts thérapeutiques.

En dehors de ces régions, on rencontre d'autres placards de sol salés répandus un peu partout, dans toute la dépression de Munténie et qui se révèlent souvent par l'existence de plantes halophiles comme *Sueda maritima, Statice germanica,* etc. Comme nous le verrons plus loin, toutes ces régions sont peuplées par des *atroparvus.*

3. — *La région inondable du Danube* s'étend sur environ 1.000 kilomètres de longueur depuis Baziaș jusqu'à Brăila, et sur une profondeur de 3-20 kilomètres vers l'intérieur. La rive droite du Danube est en général assez haute sur une grande partie du parcours, tandis que la rive gauche est partout basse, permettant le vagabondage des eaux aux périodes des crues.

La région inondable du Danube est constituée par l'axe du fleuve et par un système de lacs, étangs et marais en partie per-

manents et en partie temporaires, se remplissant d'eau seulement à l'époque des grandes crues du printemps.

Parmi les trois ou quatre périodes annuelles de crues régulières des eaux du Danube, celles du printemps sont les plus importantes. C'est alors que ressort le rôle important de la zone inondable du fleuve, comme réservoir pour le trop-plein des eaux. Très souvent, au printemps, la zone inondable se transforme en une véritable mer sans bornes remplie par les quantités massives d'eau débordées de l'axe du Danube.

Après le retrait des eaux, toute la région devient un système immense de lacs, marais, marécages recouvrant encore une grande partie des 550.000 hectares du terrain. On obtient ainsi un immense complexe de gîtes larvaires donnant naissance à des peuplements innombrables d'Anophèles. Comme l'époque des crues et du retrait des eaux coïncide avec la période préépidémique et épidémique, on peut facilement voir le rôle de la région dans l'entretien d'un anophélisme en même temps permanent que très riche.

4. — Le plateau dobrodgéen, c'est-à-dire la portion comprise entre le Danube et la mer Noire, est un territoire en grande partie de nature calcaire extrêmement sec au centre et pourvu d'une série de lacs en général salés sur son bord oriental. Le long du Danube, il est voisin aux systèmes de marais de la zone inondable. Les cours d'eau manquent la plupart du temps sur le plateau lui-même et les quelques collections d'eau qu'on y trouve ci et là sont éminemment salées. Aussi ce territoire est le siège de peuplements d'*atroparvus* et d'*elutus*.

5. — Le delta du Danube constitue aussi une région à part. Elle mesure environ 600.000 hectares. C'est une grande cuvette au fond souvent au-dessous du niveau de la mer. A la période des grandes crues, il n'en reste qu'environ 65-70.000 hectares de terres émergées; le reste constitue un fouillis inextricable de lacs, étangs, marais communiquant entre eux par un nombre considérable de canaux. Tout le système est drainé par les trois bras principaux du Danube, dont le cours est très paresseux.

Des étendues infinies de forêts de roseaux alternent avec des surfaces d'eau libres. De place en place, des bouquets de saules se groupent sur des points plus élevés, ou courent le long des rives des bras et de certains canaux. En trois endroits, des terrains plus élevés — Grinduri — sont libres d'eau même pendant les

grandes crues. Ces terrains sont recouverts d'étranges forêts à végétation exubérante et très variée.

Dans le delta du Danube, dont la population est d'environ 20-25.000 habitants, les agglomérations humaines sont parsemées sur les portions émergées. Des villages de 300-500-1.500 habitants, ainsi que beaucoup d'autres agglomérations plus réduites, fixes ou demi-fixes de pêcheries, sont éparpillés un peu partout au milieu de l'étendue sauvage d'eau et de roseaux.

L'INSECTE VECTEUR

Les espèces d'Anophèles que nous avons trouvées jusqu'à présent en Roumanie sont les suivantes :

A. maculipennis,
A. bifurcatus,
A. plumbeus,
A. pseudopictus.

Nous n'avons pas trouvé les *A. algeriensis* et *A. hispaniola. L'A. superpictus* semble être absent en Roumanie.

La répartition de ces espèces peut être résumée, d'après nos recherches jusqu'à présent, comme il suit :

A. plumbeus est l'habitant des forêts. On rencontre ses larves dans les collections des creux des arbres, en association souvent avec des *Finlaya geniculatus*, parfois avec *Aedes pulchritarsis.*

La région préférée par ce moustique semble être surtout celle des collines sous-carpathines, comme dans la région de R.-Vîlcea, Pitești, certaines stations aux environs immédiats du Brașov, etc. Il peut descendre pourtant encore plus bas, vers la plaine, surtout le long de certaines rivières accompagnées de forêts sur leurs bords et autour même de Bucarest (forêt Pantelimon) et arriver alors jusque loin dans la plaine, lié toujours à la présence des forêts.

Le rôle de l'*A. plumbeus* dans la transmission du paludisme est nul.

A. bifurcatus a une répartition plus large. On le rencontre également dans certains points sous-carpathiques (Florica, dép. Argeș, vallée Prahova, vallée de l'Oltet), mais il est certainement fréquent jusqu'aux régions basses des plaines moldo-bessarabiennes, ainsi qu'en Munténie jusqu'en pleine zone inondable du

Danube. Nous citons quelques stations d'après nos notes de route :

Brașov, Florica (Argeș), Drăgășani sur le cours moyen de l'Olt, Botoșani, Iași, etc. Ensuite Comana, Băneasa, sur le cours de l'Argeș jusqu'à Giurgiu au bord du Danube, Christești (Jassy), Hănășeni de pădure (Bessarabie), Vădeni (Covurlui), etc., etc.

A. bifurcatus est un moustique plus ou moins « sauvage » menant sa vie en dehors du voisinage immédiat de l'homme et ne paraissant pas s'adapter de manière définitive à l'homme. Il pique même en plein jour et attaque l'homme quand celui-ci est à sa portée (les paysans pendant les travaux d'été) aux champs, sans que son rôle de transmetteur *spontané* ait été démontré.

A. pseudopictus est très nombreux dans le delta du Danube qui peut être considéré comme son foyer spécial. De là, il s'étend assez loin dans le pays, mais semble toujours être lié aux gîtes salés. C'est ainsi qu'on le rencontre en dehors du delta du Danube, dans la région des grands lacs sud-bessarabiens. Il remonte sur le cours supérieur du Prut où nous l'avons suivi jusqu'au niveau de la ville de Jassy. Au Sud du delta, on rencontre des exemplaires sporadiques à Mamaia, Tekirghiol, Mangalia, Duranculac, et probablement il doit se retrouver encore plus au Sud, jusqu'en Bulgarie.

Des peuplements isolés se rencontrent encore plus à l'intérieur du pays, dans certains point du département de Brăila, R. Sărat (lacs salés). Autour de Bucarest même, nous avons rencontré des exemplaires isolés par l'élevage de larves. De nouveaux peuplements réapparaissent vers l'Ouest, en Olténie (Sadova, Raeți, Damian).

Il est très probable que d'autres stations plus nombreuses de cette espèce puissent encore être rencontrées à l'intérieur du pays. L'espèce semble être liée aux gîtes saumâtres, ce qui en fait une sorte de test pour prévoir l'existence de l'*A. m. atroparvus,* tout comme ce pourrait être le cas pour *Mansonia Richardii* ou l'*Aedes caspius* et *A. dorsalis.* Le rôle de l'*A. pseudopictus* est nul dans la transmission spontanée du paludisme dans nos contrées.

A. maculipennis est le seul vecteur réel du paludisme en Roumanie. Dans nos recherches personnelles nous avons mis en évidence l'existence des races suivantes :

A. m. typicus,
A. m. messeæ,
A. m. atroparvus,
A. m. elutus.

Nous n'avons pas trouvé la race *melanoon*. Tous les œufs qui, au premier abord, auraient pu être considérés comme appartenant aux *malanoon*, se sont révélés, après dessiccation sur papier filtre, comme appartenant à l'une ou l'autre des races de plus haut.

La race *labranchiæ* (ainsi que celles apparentées à celle-ci), etc., n'existe pas non plus en Roumanie, où nous ne l'avons jamais rencontrée parmi plus de 60.000 pontes étudiées par nous jusqu'à présent.

D'ailleurs, il semble bien que cette race n'existe pas non plus en Grèce, d'après les excellentes recherches de Barber et ses collaborateurs.

D'après tout ce que nous pouvons savoir jusqu'à présent, il semble que l'*A. m. labranchiæ* serait plutôt caractéristique pour le bassin occidental de la Méditerranée, comprenant les côtes de l'Italie, celles de la France méridionale, de l'Espagne, de l'Afrique du Nord. Nous-même, pendant nos recherches de 1934-1936 en Yougoslavie, nous avons démontré en plus l'existence des *labranchiæ* sur tout le littoral dalmate de l'Adriatique, à partir du parallèle de Fiume jusque près de Siebenic. Dans toute cette région, le *labranchiæ* se trouve sur le bord même de la mer et dans certaines îles (Krk, Rab, Pag au moins), ainsi qu'à l'intérieur jusqu'à 80 kilomètres dans le Karst dalmatin.

Sans entrer dans les détails qui seront exposés dans un mémoire spécial, on peut résumer comme il suit la répartition des races de *A. maculipennis* en Roumanie, au moins d'après nos études sur le terrain, sur environ 64.000 pontes, entre les années 1933-1937 et 1938 (pp. 219 à 225).

A. m. typicus caractérise toutes les régions des collines (soit collines sous-carpathines, soit collines d'érosion) de n'importe quelle partie du pays. Il se retrouve encore le long de toutes les *vallées des rivières* jusqu'à leurs embouchures dans le Danube. Dans les plaines, les *typicus* sont toujours présents *à la proximité des forêts*. A mesure qu'on descend plus bas dans les vallées des rivières, les peuplements cessent d'être purs et se mélangent en proportions déterminées avec les autres races. Enfin des stations isolées, parfois très larges, apparaissent dans toutes les plaines basses dominées par d'autres races : *messeæ, atroparvus* ou *elutus*, toujours là où existent, dans les gîtes larvaires, des différences de niveau suffisamment prononcées pour déterminer et entretenir un brassage convenable des eaux.

A. m. messeæ caractérise toutes les plaines basses du pays. Toute la zone inondable du Danube, le delta également, sont le

siège de peuplements souvent purs de *messeæ*. *A l'intérieur*, le *messeæ* est pour ainsi dire universel, partout où l'on trouve des *eaux stagnantes*. Toutes les régions de plaines de l'intérieur du pays, où se trouvent des lacs, étangs, marécages, etc., sont peuplées par des *messeæ*. Toutes les larges vallées des grandes rivières et inondées par celles-ci sont également peuplées par des *messeæ*.

Sauf les collines proprement dites et sauf les zones spéciales d'*atroparvus*, on peut donc dire que cette race est universellement répandue en Roumanie, soit à l'état pur, soit mélangée aux autres races.

A. m. elutus : L'aire de distribution de cette race est — d'après ce que nous avons pu établir jusqu'à présent — réduite au bord de la Mer Noire. Nous avons pu établir, à partir de la frontière bulgare, vers le Nord, un grand nombre de stations sur une distance d'environ 120 kilomètres. La station extrême Nord trouvée par nous jusqu'à présent est à 8 kilomètres Nord de Constantza; mais il est très probable que l'*elutus* existe encore plus au Nord, au moins jusqu'au complexe des lacs Razelm-Sinoë, où les conditions œcologiques sont du même type.

L'*elutus* ne semble pas pénétrer à l'intérieur des terres, au moins nous ne l'avons pas encore trouvé ni à l'intérieur du Dobrodgea, et d'autant moins à gauche du Danube.

Il semble bien que cette race méditerranéenne soit liée à la côte de la mer au moins à notre latitude, et qu'elle trouve dans nos parages les dernières antennes d'adaptation vers le climat continental.

Nous n'avons pu nous procurer des renseignements suffisants concernant les abords de la Mer Noire du côté de l'Ukraine, où il ne serait pas impossible que l'*elutus* existe bien. Ce serait d'autant plus probable que, tout récemment, Rybinsky (1) a signalé la présence en Ukraine, au niveau de Kiew, de l'*Uranotænia unguiculata*. Nous avons également trouvé cette espèce, malgré tout sous-tropicale, depuis 1928, dans le delta du Danube.

Ces dernières années, J. Gabriel (2), ainsi que J. Drbohlav (3),

(1) Rybinsky (S.-B.) : « Matériaux concernant la faune des moustiques de l'Ukraine du Nord-Ouest. » (*Bull. Soc. Zool. Fr.*, vol. LVIII, n° 1, 1933, p. 18.)

(2) Gabriel (J.) : « Le paludisme et l'anophélisme en Russie sous-carpathique. » (*Travaux de l'Institut d'Hygiène publique de l'Etat tchécoslovaque*, n° 2, avril 1938.)

(3) Drbohlav (J.) : « Sur l'épidémiologie du paludisme dans la Russie sub-carpathique de 1923-1936. » (*Ibid.*, n° 4, 1936, p. 158.)

a cité l'existence de l'*elutus* dans la Russie sous-carpathique. Cette affirmation est basée seulement sur les déterminations d'*imagines* de moustique, sans contrôle des œufs. Nous la croyons comme prématurée jusqu'à ce qu'elle soit démontrée par l'étude serrée des œufs de ces moustiques.

A. m. atroparvus : La race *atroparvus* existe au bord de la mer en peuplements purs ou presque purs, mélangés aux *elutus* et *messeæ*, parfois également aux *typicus*. Mais sa répartition, loin d'être limitée au bord de la mer, s'étend bien sur presque tout le reste du pays, aussi bien dans la Dobrodgea et le delta (Sf. Gheorghe) que tout à fait à l'intérieur, dans la Bessarabie, la Moldavie, la Munténie, l'Olténie, le Banat et les marches de l'Ouest et NO jusqu'aux confins du Banat jugoslave, de la plaine hongroise et de la vallée de la Tissa de la Russie sous-carpathique en Tchécoslovaquie.

Nous trouvons, par conséquent, cette race jusque très loin à l'intérieur du continent, soit à *700* kilomètres de la mer.

Dans cette large et profonde pénétration à l'intérieur du pays et du continent, l'*atroparvus* suit toujours les sols salés, qui sont d'ailleurs très abondants en Roumanie, comme ils le sont également dans la plaine du Danube, de la Croatie, dans la plaine hongroise, etc.

Déjà, en 1936, nous avions constaté l'existence de l'*atroparvus* à Ossjek dans la Croatie en Yougoslavie, aux confins de la plaine hongroise. Comme il ne pouvait exister isolé dans ce seul point, nous avions émis l'hypothèse qu'il devait se trouver également dans le Banat jugoslave, dans la plaine hongroise et dans les marches NO de la Roumanie, et nous avons essayé même d'organiser des recherches communes sur des territoires d'autres pays de l'Europe centrale, afin d'établir l'aire de répartition de cette race dans le centre du continent européen.

Malheureusement, ce plan n'a pas pu être exécuté. Pourtant, nos recherches personnelles dans les départements de Bihor et Satu-Mare ont vérifié notre manière de voir, puisque nous y avons bien trouvé des peuplements d'*Atroparvus*, comme on peut le voir dans le tableau qui suit où nous avons noté quelques stations à *Atroparvus* dans le Bihor et le Satu-Mare. D'autre part, M^me^ le docteur Fischerova, qui a travaillé d'après nos indications en Tchécoslovaquie, nous a communiqué par écrit qu'elle a bien retrouvé les *atroparvus* dans la Russie sous-carpathique, et Lörincz (*Riv. Malariol.*, vol. XVI, 1937) le retrouve dans plusieurs stations en Hongrie.

Le problème de la race atroparvus *et de sa répartition à l'intérieur du continent européen doit attirer l'attention des malariologistes au moins si ce n'était qu'au point de vue de son rôle éventuel dans le paludisme à longue incubation.*

Dans le tableau exposé ci-contre, nous donnons quelques chiffres concernant les diverses races de *A. maculipennis* trouvées par nous en Roumanie, et leur répartition par localités. Ces chiffres représentent une partie des recherches faites par nous et nos collaborateurs, et seront analysés dans un mémoire spécial en cours de préparation.

En devançant ce mémoire, nous croyons nécessaire d'attirer l'attention sur deux détails :

1. — L'image raciale d'une station ou d'une région n'a de valeur que pour l'époque exclusive où la capture a été faite. Cette image est essentiellement variable d'une époque à l'autre, au cours d'une même année.

2. — L'image raciale d'une station ou d'une région peut changer également d'une année à l'autre, jusqu'au renversement total, par suite des modifications climatologiques générales ou de celles réalisées par l'homme dans la structure oro-hydrographique du terrain.

TABLEAU

des races d'*Anopheles maculipennis* en Roumanie pour les années 1933-1938 (1).

No cor.	Localité	Année de la récolte (2)	Nombre de pontes étudiées	Races				Formes aberrantes	Observations
				Typicus	*Messeæ*	*Atroparvus*	*Elutus*		
	Dép. Bălți :								
1.	Elisaveta	1938	39	0	28	10	0	1	
2.	Biliceni	»	41	1	9	31	0	0	
3.	Copăceni	»	40	8	9	23	0	0	
	Dép. Orhei :								
4.	Sărăteni	1938	43	7	12	24	0	0	
	Dép. Lăpușna :								
5.	Singera	1938	12	6	4	2	0	0	
6.	Visterniceni	»	89	51	8	30	0	0	
7.	Chirca	»	36	23	8	5	0	0	
	Dép. Tighina :								
8.	Bulboaca	1938	56	2	48	7	0	0	
9.	Telița	»	12	2	10	0	0	0	
10.	Chițcani	»	35	6	29	0	0	0	
11.	Copanca	»	68	2	66	0	0	0	
12.	Cernățeni	»	54	0	54	0	0	0	
	Dép. Botoșani :								
13.	Costești	1933	16	9	5	2	0	0	
14.	Curtești	1937	31	0	0	30	0	0	
15.	Mînăstireni	»	11	0	2	9	0	0	
16.	Soroceni	»	8	1	1	6	0	0	
17.	Unteni	»	11	1	0	10	0	0	
	Dép. Iași :								
18.	Cristești	1933	20	1	18	1	0	0	
19.	Prisăcani	»	55	2	52	1	0	0	
20.	Costuleni	»	29	8	21	0	0	0	
21.	Ossoi	»	60	15	45	0	0	0	
22.	Tomești	»	39	7	32	0	0	0	
		1934	39	1	37	1	0	0	
23.	Poeni	1933	32	28	4	0	0	0	
		1934	100	64	34	2	0	0	
24.	Iași	»	5	0	3	2	0	0	
25.	Socola	1933	70	68	1	1	0	0	
26.	Măcărești	»	2	0	2	0	0	0	
	A reporter	....	1.053	313	542	197	0	1	

(1) Extrait partiel d'un mémoire en cours de préparation sur les races d'Anophèles en Roumanie, en collaboration avec Virg. Nicolau-Jonesco, M. Jordan-Georgesco et G. Lupasco.

(2) Le matériel de l'année 1933 provient, pour la plus grande partie, des recherches faites avec Martini en 1933 (Martiní et Zotta : *Arch. roumaines*, vol. VII, n° 2. 1934, p. 135). Tout le reste concernant les années 1934, 1935, 1936-1938, représente des recherches personnelles et inédites.

TABLEAU DES RACES D'*Anopheles maculipennis* EN ROUMANIE *(suite)*.

N° cor.	Localité	Année de la récolte	Nombre de pontes étudiées	Races				Formes aberrantes	Observations
				Typicus	*Messeae*	*Atroparvus*	*Elutus*		
	Report	....	1.053	313	542	197	0	1	
	Dép. Iași (cont.) :								
27.	Manisali	1933	18	17	1	0	0	0	
28.	Podul Iloaiei	»	37	23	1	13	0	0	
29.	Hodora	»	52	40	1	11	0	0	
	Dép. Vaslui :								
30.	Vaslui	1936	50	9	34	7	0	0	
		1937	19	17	2	0	0	0	
31.	Codăiești	»	28	21	2	5	0	0	
32.	Solești	»	11	9	2	0	0	0	
33.	Moara Grecilor	»	15	15	0	0	0	0	
34.	Rediu	»	4	4	0	0	0	0	
35.	Stefan cel Mare.....	»	50	47	0	3	0	0	
	Dép. Tutova :								
36.	Simila	1938	60	34	12	14	0	0	
37.	Canton între B. și Sîrbi.	»	5	4	1	0	0	0	
38.	Sîrbi	»	112	54	44	14	0	0	
39.	Zorleni	»	9	2	6	1	0	0	
40.	Ghidigeni	»	49	8	29	12	0	0	
41.	Crivești	»	56	28	25	3	0	0	
42.	Puești	»	51	48	1	2	0	0	
43.	Pogana	»	67	61	3	3	0	0	
	Dép. Covurlui :								
44.	Frumușița	1933	41	3	34	4	0	0	
45.	Tulucești	»	47	0	46	1	0	0	
	»	1936	269	1	268	0	0	0	
46.	Oancea	1933	90	2	88	0	0	0	
	»	1936	51						
47.	Vlădești	1936	83	3	80	0	0	0	
48.	Foltești	»	171	9	160	2	0	0	
49.	Sivița	»	104	2	102	0	0	0	
	Dép. Putna :								
50.	Nămoloasa	1936	60	0	3	57	0	0	
51.	Fierbinți	»	95	6	17	72	0	0	
52.	Nănești	»	88	0	9	79	0	0	
	Dép. R. Sărat :								
53.	Jirlău	1936	106	0	51	55	0	0	
54.	Drogu	»	49	0	21	28	0	0	
55.	Ciineni	»	39	0	7	32	0	0	
56	Amara	»	152	0	25	127	0	0	
57.	Balta Albă	»	44	0	7	37	0	0	
58.	Băile	»	22	2	3	17	0	0	
	A reporter.....	....	3.257	782	1.627	796	0	1	

TABLEAU DES RACES D'*Anopheles maculipennis* EN ROUMANIE *(suite)*.

N° cor.	Localité	Année de la récolte	Nombre de pontes étudiées	Races				Formes aberrantes	Observations
				Typicus	*Messeæ*	*Atroparvus*	*Elutus*		
	Report	....	3.259	782	1.627	796	0	1	
	Dép. Ialomița :								
59.	Ciocănești	1936	57	1	51	5	0	0	
60.	Dorobanțu	»	44	0	32	12	0	0	
61.	Ulmu	»	19	0	8	11	0	0	
62.	Rasa	»	60	0	31	29	0	0	
63.	Chirnogi	»	25	2	1	22	0	0	
	Dép. Ilfov :								
64.	Brîncoveni	1933	17	0	17	0	0	0	
65.	Sărulești	»	25	0	24	1	0	0	
66.	Obilești	»	67	0	63	4	0	0	
67.	Ulmeni	»	11	1	10	0	0	0	
68.	Preazna	»	16	0	13	3	0	0	
69.	Suliman	»	22	0	12	10	0	0	
70.	Gurbănești	»	66	1	52	13	0	0	
	»	1934	32	2	4	26	0	0	
71.	Băneasa	»	2	1	0	1	0	0	
72.	Brănești	1933	299	31	217	51	0	0	
	»	1934	6.951	259	4.022	2.070	0	0	
	»	1935	12.125	358	2.378	9.389	0	0	
	»	1936	9.724	296	2.683	6.699	0	46	
	»	1937	1.902	28	893	978	0	3	
	»	1938	392	15	212	153	0	12	
73	Pasărea	1938	170	7	145	18	0	0	
74.	Coțofanca	1934	210	2	108	100	0	0	
75.	Ciofliceni	1933	106	1	101	4	0	0	
76.	Chirnogi	»	17	0	17	0	0	0	
77.	Ciurel	1935	52	19	26	7	0	0	
	Dép. Dîmbovița :								
78.	Dragomirești	1938	24	24	0	0	0	0	
	Dép. Vlașca :								
79.	Naipu	1933	28	0	19	9	0	0	
80.	Ghimpați	»	56	2	53	1	0	0	
81.	Asan-Aga	»	51	2	37	12	0	0	
	»	1934	242	5	137	100	0	0	
82.	Drăgănești	1933	34	1	8	25	0	0	
83.	Meletie	»	69	2	67	0	0	0	
84.	Pueni	»	45	0	45	0	0	0	
85.	Comana	1933	38	5	30	3	0	0	
	»	1934	1.526	19	1.440	67	0	0	
	»	1935	3.713	132	3.247	334	0	0	
	»	1936	3.724	153	3.291	280	0	0	
	»	1937	317	9	278	35	0	0	
	»	1938	308	3	301	4	0	0	
86.	Giurgiu	1934	45	7	32	6	0	0	
87.	Arsachi	»	26	0	19	7	0	0	
	A reporter.....	....	45.914	2.170	21.751	21.285	0	62	

TABLEAU DES RACES D'*Anopheles maculipennis* EN ROUMANIE *(suite)*.

N° cor.	Localité	Année de la récolte	Nombre de pontes étudiées	Races				Formes aberrantes	Observations
				Typicus	*Messeæ*	*Atroparvus*	*Elutus*		
	Report	....	45.914	2.170	21.751	21.285	0	62	
	Dép. Vlașca (cont.):								
88.	Gostinul	1934	2	0	1	1	0	0	
89.	Gogoșari	»	32	0	2	30	0	0	
90.	Drăguliceanu	»	9	1	1	7	0	0	
91.	Ralești	»	29	0	1	28	0	0	
92.	Cacaleți	»	14	0	3	11	0	0	
93.	Pîngălești	»	20	1	12	7	0	0	
	»	»	43	5	25	13	0	0	
94.	Căminească	1935	86	10	13	63	0	0	
95.	Mihai Bravu	»	45	4	37	4	0	0	
	Dép. Teleorman :								
96.	Salcea	1933	15	12	3	0	0	0	
97.	Drăgănești	1934	70	0	61	9	0	0	
98.	Zimnicea	»	123	0	123	0	0	0	
99.	Lița-Odaia	»	162	15	103	44	0	0	
100.	Lița	1935	35	9	6	20	0	0	
101.	Zlata	1934	115	17	85	13	0	0	
102.	Rîioasa-Olteanca	»	81	18	57	6	0	0	
103.	Piatra	»	13	1	10	2	0	0	
104.	Vînători	1938	21	1	8	7	0	5	
105.	Cioara	»	12	1	3	4	0	4	
	Dép. Romanați :								
106.	Balș	1938	56	25	31	0	0	0	
107.	Osica de Sus.....	»	36	15	20	1	0	0	
108.	Stœnești	»	29	27	1	1	0	0	
109.	Izbiceni	»	16	3	9	4	0	0	
	Dép. Dolj :								
110.	Rojiște	1935	48	21	1	26	0	0	
111.	Sadova	»	8	1	3	4	0	0	
112.	Segarcea	1934	66	11	52	3	0	0	
	Dép. Timiș :								
113.	Uliuc	1938	26	10	13	3	0	0	
114.	Chevereșul Mare	»	36	33	2	1	0	0	
115.	Buziaș	»	25	21	2	2	0	0	
116.	Sinersig	»	33	28	1	4	0	0	
117.	Chisătău	»	37	24	12	0	0	1	
118.	Suștra	»	37	35	1	1	0	0	
119.	Izvin	»	48	6	5	37	0	0	
120.	Remetea Mare	»	31	8	22	1	0	0	
121.	Jebel	»	25	5	10	10	0	0	
122.	Liebling	»	18	9	2	7	0	0	
123.	Denta	»	35	11	4	20	0	0	
124.	Ciacova	»	36	5	26	5	0	0	
125.	Rudna	»	34	0	26	8	0	0	
126.	Checea	»	16	1	3	12	0	0	
	A reporter.....	....	47.537	2.564	22.550	21.704	0	72	

TABLEAU DES RACES D'*Anopheles maculipennis* EN ROUMANIE *(suite)*.

N° cor.	Localité	Année de la récolte	Nombre de pontes étudiées	Races				Formes aberrantes	Observations
				Typicus	*Messeæ*	*Atroparvus*	*Elutus*		
	Report	....	47.537	2.564	22.551	21.704	0	72	
	Dép. Arad. :								
127.	Nădab	1938	34	9	13	12	0	0	
128.	Sepreuș	»	40	19	11	10	0	0	
129.	Germeiu	»	50	48	2	0	0	0	
130.	Gurba	»	28	17	3	8	0	0	
131.	Sicula	»	32	21	7	4	0	0	
132.	Ineu	»	71	18	52	1	0	0	
133.	Vîrfurile	»	30	28	0	2	0	0	
134.	Pescari	»	29	20	2	7	0	0	
136.	Maderat	»	32	17	9	6	0	0	
	Dép. Bihor :								
137.	Bucium	1937	31	29	1	1	0	0	
138.	Dușești	»	34	30	2	2	0	0	
139.	Sîmbătă	»	27	14	13	0	0	0	
140.	Răbăgani	»	31	25	6	0	0	0	
141.	Pocola	»	30	29	0	1	0	0	
142.	Sudrigiu	»	21	21	0	0	0	0	
143.	Negru	»	37	37	0	0	0	0	
144.	Gurani	»	41	40	1	0	0	0	
145.	Pietroasa	»	27	27	0	0	0	0	
146.	Forosig	»	35	35	0	0	0	0	
	Dép. Satu Mare :								
147.	Lazuri	1937	27	14	13	0	0	0	
148	Bercu	»	38	11	27	0	0	0	
149.	Pauleşti	»	31	12	17	2	0	0	
150.	Culciul Mare	»	29	9	18	2	0	0	
151.	Amaț	»	27	15	10	2	0	0	
152.	Moftinul Mic	»	37	13	22	1	0	1	
153.	Colonia Paulian	»	42	12	27	3	0	0	
	Dép. Tulcea :								
154.	Jijila	1933	40	0	40	0	0	0	
155.	Vacăreni	»	22	0	22	0	0	0	
156.	Luncavița	»	46	0	46	0	0	0	
157.	Isaccea	»	43	0	43	0	0	0	
158.	Somova	»	49	0	49	0	0	0	
159.	Ciatalchioi	»	46	0	46	0	0	0	
159 bis	Lascar-Catargi	»	46	0	46	0	0	0	
160.	Pătlăgeanca	»	53	0	22	31	0	0	
	»	1934	45	0	43	2	0	0	
161.	Milla 23	1933	40	0	40	0	0	0	
162.	Sulina	1933	143	0	143	0	0	0	
	»	1934	5	0	4	1	0	0	
163.	Cardon	1933	55	0	55	0	0	0	
164.	Sfistofca	»	21	0	20	1	0	0	
165.	Letea	»	87	0	87	0	0	0	
	A reporter.....	....	49.169	3.134	23.513	21.803	0	73	

TABLEAU DES RACES D'*Anopheles maculipennis* EN ROUMANIE *(suite)*.

No cor.	Localité	Année de la récolte	Nombre de pontes étudiées	Races				Formes aberrantes	Observations
				Typicus	*Messeæ*	*Atroparvus*	*Elutus*		
	Report	....	49.169	3.134	23.517	21.803	0	73	
	Dép. Tulcea (cont.):								
166.	Rosetti	1933	32	0	32	0	0	0	
167.	Saint-Georges	»	114	0	97	17	0	0	
168.	Tulcea	1934	14	0	14	0	0	0	
	Dép. Constanța :								
169.	Constanța (Tăbăcărie)...	1933	27	1	7	19	0	0	
170.	Răcari	»	10	1	0	4	5	0	
171.	Năvodari	»	26	0	0	26	0	0	
	»	1934	103	0	2	101	0	0	
172.	Limanul	1934	68	0	0	68	0	0	
	»	1935	133	3	2	128	0	0	
173.	2 Mai..	1934	9	0	0	9	0	0	
	»	1937	40	0	2	37	0	1	
174.	Urlukioiu	1933	24	7	0	17	0	0	
	»	1934	8	0	0	8	0	0	
	»	1935	41	2	0	25	14	0	
	»	1937	83	6	13	48	16	0	
	»	1938	35	1	0	34	0	0	
175.	Mamaia	1933	10	1	6	3	0	0	
	»	1934	188	0	14	174	0	0	
	»	1935	92	0	27	65	0	0	
	»	1937	854	5	447	376	26	0	
176.	Tatlageacu mare	1934	34	0	0	34	0	0	
177.	Mamaia Grădinării.....	1937	914	9	536	163	206	0	
178.	Tekirghiol	1933	17	0	1	16	0	0	
	»	1934	17	0	0	17	0	0	
	»	1935	393	21	27	265	80	0	
	»	1936	598	7	122	435	21	13	
	»	1937	670	26	302	331	9	2	
179.	Mangalia oraș.....	1934	23	0	0	23	0	0	
	»	1935	542	6	74	371	91	0	
	»	1936	1.386	13	79	1.272	22	0	
	»	1937	751	15	76	591	64	5	
180.	Mangalia Grădinării.....	1937	729	16	47	79	587	0	
181.	Herghelia	1935	401	21	100	146	134	0	
	»	1937	916	16	157	453	289	1	
182.	Herghelia Grădinării....	1937	729	16	47	79	587	0	
183.	Tuzla	1934	11	0	1	10	0	0	
	»	1935	161	5	9	124	23	0	
	»	1936	92	1	14	74	3	0	
	»	1937	131	2	49	73	5	2	
	»	1938	18	0	0	18	0	0	
184.	Agigea	1934	31	0	2	29	0	0	
	»	1935	827	9	13	413	392	0	
	»	1936	1.573	44	138	1.282	105	4	
	A reporter.....	....	64.172	3.441	26.284	30.559	3.139	103	

TABLEAU DES RACES D'*Anopheles maculipennis* EN ROUMANIE *(suite)*.

No cor.	Localité	Année de la récolte	Nombre de pontes étudiées	Races				Formes aberrantes	Observations
				Typicus	*Messeæ*	*Atroparvus*	*Elutus*		
	Report.....	...	64.172	3.441	26.284	30.559	3.139	103	
	Dép. Constanța (cont.) :								
184.	Agigea.....	1937	426	25	176	220	5	0	
	»	1938	87	5	78	4	0	0	
185.	Biruința	1935	34	0	0	34	0	0	
186.	Ovidiu	1935	25	0	0	25	0	0	
187.	Eforia	1936	292	4	177	111	0	0	
	»	1937	552	12	386	153	0	1	
	»	1938	138	7	124	6	1	0	
188.	Medgidia	1936	116	0	1	115	0	0	
189.	Topalu	»	32	0	32	0	0	0	
190.	Dunărea	»	46	1	45	0	0	0	
191.	Oltina	»	42	0	38	4	0	0	
192.	Mîrleanu	»	14	0	0	14	0	0	
193.	Aliman	»	13	0	1	12	0	0	
194.	Rasova	»	19	0	5	14	0	0	
195.	Cochirleni	»	14	0	0	14	0	0	
196.	Baia	»	59	2	8	49	0	0	
197.	Domnița Elena	1937	116	8	7	9	92	0	
198.	Costinești	1938	34	0	0	34	0	0	
199.	Schitul	»	17	0	0	17	0	0	
	Dép. Durostor :								
200.	Gîrlița	1934	196	6	186	4	0	0	
201.	Aidemir	1938	29	1	28	0	0	0	
	TOTAUX.....	....	66.473	3.512	47.576	31.398	3.237	104	

FORMES DE PALUDISME ET ÉVOLUTION SAISONNIÈRE

Toutes les espèces de l'hématozoaire palustre humain existent en Roumanie (1) et sont représentées dans les proportions moyennes suivantes :

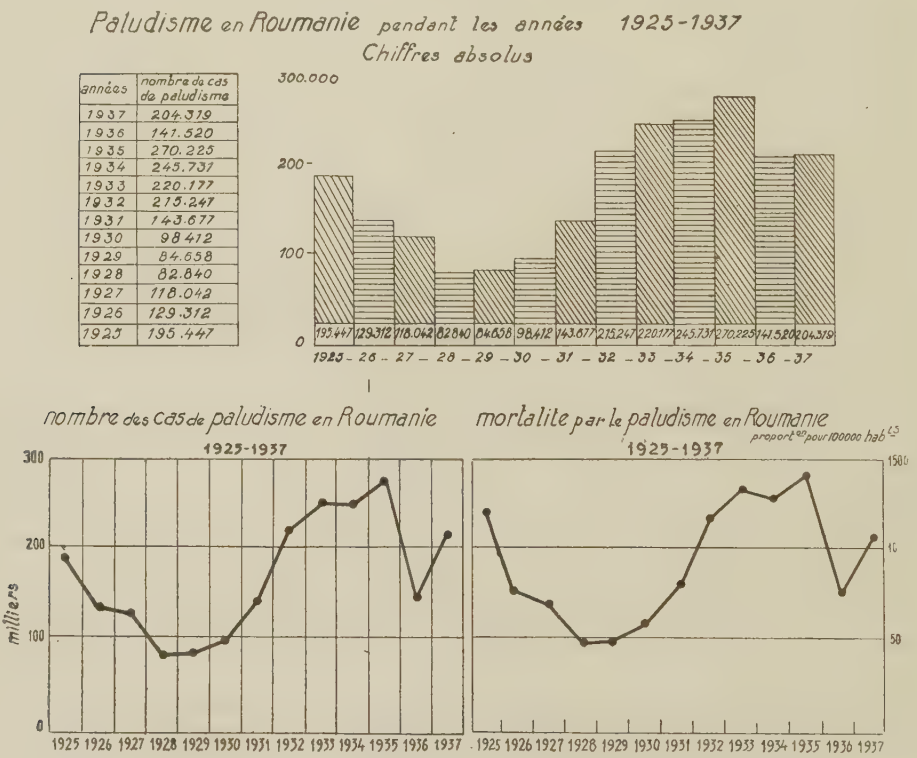
Pl. vivax	72,15 %
Pl. falciparum	26,30 »
Pl. malariæ	1,55 »

Il en résulte que la *quarte* est extrêmement réduite dans nos contrées, comme d'ailleurs dans les autres pays continentaux. La

(1) Nous n'avons pas d'observations concernant le *Pl. ovale* en Roumanie.

fièvre à *Pl. falciparum* représente bien environ un quart de toutes les formes de paludisme, tandis que la tierce bénigne constitue la grande majorité.

L'évolution saisonnière des trois formes de paludisme comporte pour chacune d'elles un maximum propre de développement à des périodes précises de l'année. Les graphiques n^{os} 1 à 5, accom-

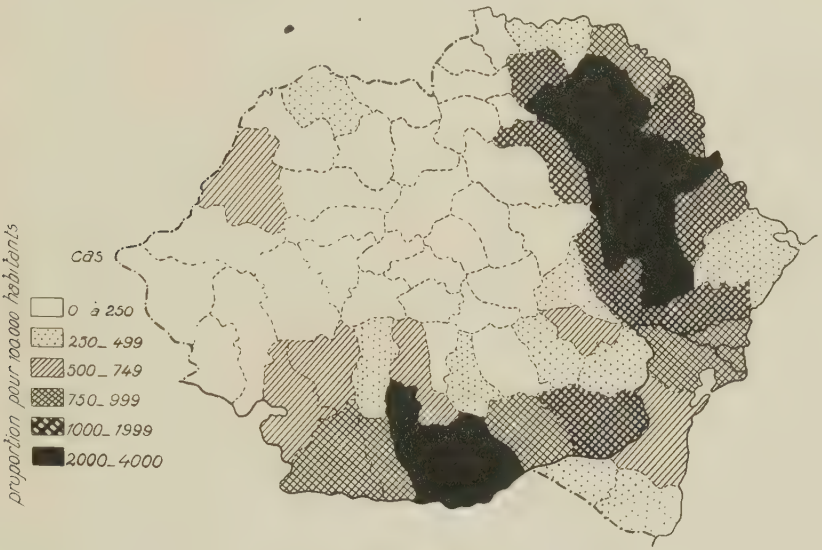


Graphiques n^{os} 1, 2, 3.

pagnant ce rapport, tirés d'observations personnelles faites dans certaines régions du pays, montrent bien cette évolution caractéristique.

Ainsi qu'on le voit de ces graphiques, les trois formes de paludisme, tout en étant mélangées à travers tout le parcours de l'année chronologique, ont, chacune d'elles, leur période propre d'épanouissement, où l'une des formes de paludisme représente de haut l'immense majorité de tous les autres cas constatés à la même époque.

C'est ainsi que la *tierce bénigne* est pour ainsi dire la maladie du printemps et d'une bonne partie de l'été (mars-juillet), puis-



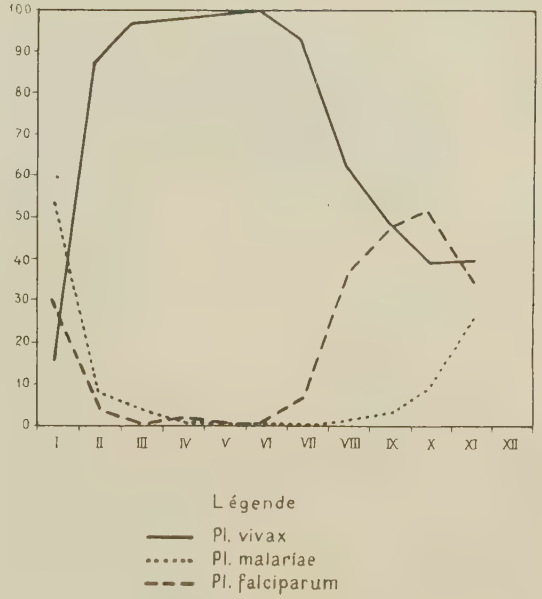
CARTE N° 1. — Incidence du paludisme en Roumanie.
Moyenne pour les années 1925-1936.

CARTE N° 2. — Répartition du paludisme en Roumanie
pour l'année 1937.

Mois	Pl. vivax		Pl. malariae		Pl. falcip		Assoc.		Total positif	%	Total negatif	%	Total examiné
	Posit	%	Posit	%	Posit	%	Posit.	%					
I	2	15.38	7	53.84	4	30.76	0	0	13	33.33	26	66.66	39
II	20	86.95	2	8.70	1	4.36	0	0	23	48.93	24	51.07	47
III	50	96.15	2	3.85	0	0	0	0	52	33.77	100	66.23	152
IV	214	97.70	2	0.90	3	1.36	0	0	219	62.75	130	37.25	349
V	417	98.11	3	0.70	3	0.70	2	0.47	425	66.20	217	33.80	642
VI	872	99.65	1	0.11	2	0.23	0	0	875	63	513	37	1388
VII	689	92.48	1	0.17	55	7.38	0	0	745	46	871	54	1616
VIII	526	62.54	10	1.18	302	35.90	3	0.35	841	54.85	692	45.15	1533
IX	396	48.65	27	3.31	390	47.91	1	0.12	814	61	519	39	1333
X	113	39	28	9.65	149	51.37	0	0	290	57.43	215	42.57	505
XI	19	39.58	12	25	17	35.42	0	0	48	39.67	73	60.33	121
XII	4	100	0	0	0	0	0	0	4	19	17	81	21
TOTAL	3322	76.39	95	2.18	926	21.29	6	0.14	4349	56.15	3397	43.85	7746

Distribution par mois
des cas nouveaux de Paludisme

GRAPHIQUE N° 4.

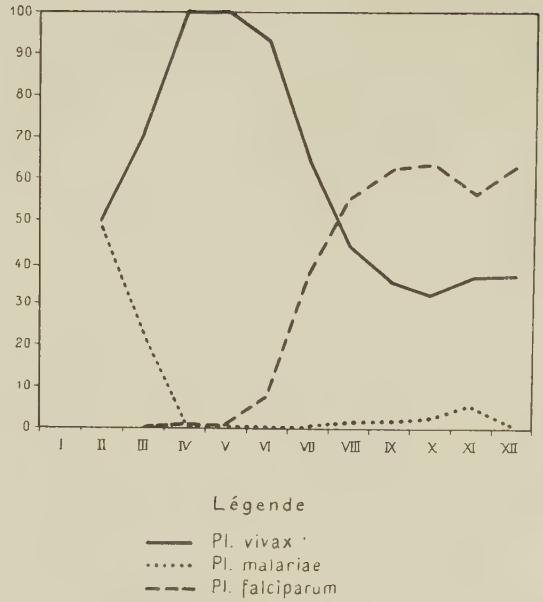


Evolution saisonnière
des trois formes de Paludisme
(pourcentages)

Mois	Pl. vivax		Pl. malariae		Pl. falcipar.		Assoc.		Total positif	%	Total négatif	%	Total examiné
	Posit.	%	Posit.	%	Posit.	%	Posit.	%					
I	0	0	1	100	0	0	0	0	1	4	24	96	25
II	2	50	2	50	0	0	0	0	4	23.53	13	76.47	17
III	32	71.11	10	22.22	0	0	3	6.66	45	33.08	91	66.92	136
IV	189	98.44	2	1.04	1	0.52	0	0	192	23.67	619	76.33	811
V	659	98.94	1	0.15	6	0.90	0	0	666	50.18	661	49.82	1327
VI	696	93.55	0	0	47	6.75	1	0.13	744	50.33	734	49.66	1478
VII	533	64.30	1	0.12	295	35.58	0	0	829	52.43	752	47.57	1581
VIII	815	44.22	19	1.03	1006	54.58	3	0.16	1843	62.87	1088	37.13	2931
IX	415	35.56	23	2	729	62.44	0	0	1167	62	714	38	1881
X	244	33.24	21	2.86	468	63.76	1	0.14	734	67.34	356	32.66	1090
XI	51	38.35	7	5.26	74	56.15	1	0.75	133	59.64	90	40.66	223
XII	10	41.62	0	0	11	52.38	0	0	21	38.18	34	61.82	55
TOTAL	3646	57.13	87	1.36	2637	41.35	9	0.14	6379	55.30	76	44.70	11555

Distribution par mois
des cas nouveaux de Paludisme

GRAPHIQUE N° 5.



Evolution saisonnière
des trois formes de Paludisme
(pourcentages)

qu'elle atteint, à cette époque, jusqu'à 85-90 % de toutes les formes de paludisme. La *quarte* s'accumule surtout sur les mois les plus froids de l'année, soit pendant les mois de novembre-février. Le paludisme à *Pl. falciparum*, qui commence à augmenter vers la fin du mois de juillet, atteint son maximum au mois de septembre-octobre environ, se caractérisant ainsi comme maladie nettement estivo-automnale.

La répartition des trois formes de paludisme est uniformément générale sur toute l'étendue du pays. Sauf des cas très particuliers, il n'y a pas de zones spéciales où une espèce d'hématozoaire soit plutôt localisée à l'exclusion des autres, et les proportions citées plus haut sont plus ou moins les mêmes soit en Bessarabie ou en Munténie, ou encore dans le Dobrodgea, ou le Banat, ou Maramureș.

En résumé, l'image du paludisme en Roumanie ne diffère point de celle des autres pays du Sud et même du Centre de l'Europe.

FRÉQUENCE DU PALUDISME

Dans les conditions actuelles de travail sur le terrain en Roumanie, les médecins de campagne doivent s'occuper en même temps de tous les problèmes concernant les maladies sociales, contagieuses, police sanitaire, etc., etc. Le paludisme est simplement l'un des nombreux chapitres dans le cadre de cette activité générale sanitaire. Il n'y a pas d'équipes spéciales utilisées exclusivement pour le paludisme en lui-même. Dans ces conditions, il est certainement impossible d'obtenir des renseignements exacts sur le nombre, la répartition, etc., des cas de paludisme.

Nous joignons à ce mémoire des cartes et des graphiques concernant le mouvement du paludisme entre les années 1925-1936. Certainement, les indications données par ces tableaux sont au-dessous de la fréquence réelle du paludisme dans le pays. Tout ce matériel représente ce que les médecins de campagne ont eu la possibilité de découvrir, enregistrer et traiter.

D'après les tableaux et les cartes reproduits, on peut se rendre compte, néanmoins, des grandes régions envahies par le paludisme. On voit bien que, sauf les régions montagneuses proprement dites, le paludisme existe bien sur presque toute l'étendue du Royaume. Certaines régions sont pourtant le siège de foyers souvent vastes d'endémie palustre. Toute la Bessarabie, par exemple; plus des deux tiers de la Moldavie, depuis les collines

sous-carpathiques; tout le Dobrodgea, sont les plus fortement atteints. Viennent ensuite la Munténie, l'Olténie, et les marches de l'Ouest et du Nord-Ouest : le Banat, le Bihor et le Maramureș.

Pour fixer les idées, nous annexons également deux tableaux de détail, exprimant le nombre total des cas de paludisme en milieu rural par départements pour les années 1935-1936 et 1937.

Dans ce qui suit, nous essayons de tirer des conclusions d'ordre général sur le caractère et le déterminisme de l'endémie palustre en rapport avec la distribution des races d'Anophèles.

PALUDISME DES GRANDES VALLÉES DES FLEUVES

Les grands cours d'eaux qui traversent en grand nombre le territoire du Royaume et qui drainent les eaux des montagnes vers le Danube et la Mer Noire, ont tous le même régime : ils sont torrentiels dans le premier tiers ou la première moitié, pour devenir très lents et paresseux dans le cours inférieur.

Sur tout ce dernier trajet, les eaux, qui coulent sur une pente excessivement douce, vagabondent d'un côté et de l'autre sur de larges surfaces et transforment ainsi, en des zones malarigènes, des terrains de centaines de kilomètres de longueur. Tout ce système d'eaux mortes, de marais, etc., constitue autant de foyers d'anophélisme pour des centaines de villages, égrenés tout le long des vallées.

Le paludisme constitue dans ces régions des taches ininterrompues sur des dizaines de milliers d'hectares.

Pour ce qui concerne le déterminisme du paludisme dans ces zones endémiques, on doit faire quelques distinctions d'une unité à l'autre.

En effet, dans les larges zones inondées, là où il y a de grandes surfaces de stagnation permanente, la race dominante est l'*A. m. messeæ* en populations souvent presque pures. Partout où les systèmes d'eaux n'ont plus ce caractère, l'image raciale se modifie très profondément.

C'est ainsi que toute *la zone inondable et inondée proprement dite du Danube* semble être peuplée presque toujours par des *messeæ* exclusivement et par des *typicus* comme associés (1). *La vallée du Nistrul* offre le même caractère. Une bonne partie du

(1) Dès que l'on en sort, pour entrer dans la dépression de Munténie, les *atroparvus* apparaissent : Dorobanțu, Vărăști (Jalomitza), etc.

Siret inférieur (après les dunes de Năməloasa) et du *Prut inférieur* vers leurs embouchures sont aussi des régions à *messeæ*.

Pour d'autres cours d'eau, la situation est sensiblement différente. Toutes ces grandes artères coulent sur un sol grandement différent de celui des fleuves cités plus haut, en même temps que leur régime et surtout leur débit est sensiblement différent. La rivière de Jalomitza, par exemple, dès qu'elle s'engage dans l'antésteppe et dans la steppe proprement dite du Bărăgan, coule dans un terrain souvent très riche en sels. La preuve de cette composition du sol est illustrée par l'existence, dans le Bărăgan, de quantités de lacs saumâtres disséminés un peu partout. Dans d'autres endroits, en l'absence de ces témoins directement visibles, on en a d'autres, plaidant pour la même constitution du sol : ce sont des plantes halophiles qui apparaissent ci et là par des exemplaires isolés, mélangés à la flore générale, et constituant parfois même des placards assez larges qui frappent l'observateur.

Dans ces conditions de terrain, toutes les collections d'eau ayant l'origine dans l'inondation ou l'infiltration provenant de la rivière, ont un caractère souvent plus ou moins saumâtre. Cela revient à dire que les gîtes anophéligères dépendant d'une rivière comme Jalomița, par exemple, abriteront des peuplements plus ou moins importants d'*atroparvus*. Ce fait a été vérifié par nous autant pour la rivière Jalomița dans son cours inférieur, que pour la plupart des autres rivières que nous avons pu explorer jusqu'à présent : Olt, Jiu, Buzău, Bâcu, Jijia, etc.

Il en résulte que, pour les régions arrosées par les grands fleuves comme le Danube et le Nistrul (Dniestre), possédant un grand débit d'eau et déterminant des zones considérables d'inondation sur des terrains richement fournis d'alluvions, c'est la race *messeæ* qui domine de haut la faune anophélienne. Au contraire, toutes les autres vallées traversant la Moldavie, Bessarabie, Munténie, Olténie sont le siège de peuplements mixtes, où c'est surtout l'*atroparvus* qui est associé au *messcæ*.

Il est intéressant maintenant d'observer que les foyers d'endémie palustre varient sensiblement d'aspect d'après le caractère des grands cours d'eau auquel ils appartiennent. Le paludisme de la zone inondable du Danube, ainsi que celui de la vallée du Nistrul, apparaît à notre avis moins dense et surtout moins grave que celui appartenant aux vallées des diverses rivières traversant les plaines de la Moldo-Bessarabie ou de la Munténie.

PALUDISME DES LIGNES INTÉRIEURES

Orohydrographie.

En dehors des lignes endémiques des grands cours d'eau, tout le reste des territoires situés entre ces rivières présentent certains caractères de structure qui en constituent souvent des unités tout aussi intéressantes au point de vue de l'œcologie du paludisme.

a) C'est ainsi que dans le nœud de collines d'érosion du centre Nord de la Moldavie (comprenant les départements de Fălciu, le Nord de Tutova, la plus grande partie du département de Vaslui, la moitié du département de Jassy, etc.), la race dominante est très souvent représentée par les *typicus*. Mais cette race n'existe à l'état pur que sur les parties hautes (ici encore en partie boisées). Dès qu'on descend dans les vallées bordées par ces hauteurs, le *messeæ* apparaît en grande abondance et même des exemplaires d'*atroparvus* se mêlent parfois à la formule raciale.

Pour le reste de la Moldavie, au Nord et surtout au Sud des collines suscitées jusque vers l'embouchure du Siret, la constitution du terrain se modifie et avec elle également l'association des races d'Anophèles. Dans ces régions, l'horizon s'élargit, des plateaux érodés alternent avec de larges plaines plates, traversées par de très petits cours d'eau possédant un lit très haut et ayant un cours autant sinueux que possible.

Tous ces plateaux et collines sont malheureusement déboisés. Les eaux des pluies lavent toutes les côtes et emportent avec elles l'humus vers le bas. Ce phénomène appauvrit d'un côté les versants et, d'un autre côté, détermine le colmatage des rivières de la plaine. Le résultat en est que le lit des eaux s'élève d'une année à l'autre, la pente d'écoulement disparaît de plus en plus et les eaux vagabondent partout aux environs, déterminant ainsi des bassins d'eau stagnante, qui sont autant de gîtes anophéligères.

En plus de cela, très souvent, ces plaines sont infiltrées de manière permanente par des *sources vives* provenant des collines et des plateaux. Comme, le plus souvent, il n'y a pas de pente d'écoulement, nous avons là autant de systèmes de marécages éminemment permanents, dont l'effet anophéligère se surajoute au premier.

Grâce à la constitution du sol, de larges placards de terrains

saumâtres sont éparpillés un peu partout dans ces mêmes régions. Comme effet de ce complexe de facteurs, la faune anophélienne dans le reste de la Moldavie, en dehors du massif des collines centrales, est presque toujours constituée cette fois par les trois races mélangées, dont tantôt l'une domine l'autre sans jamais arriver à constituer des races pures.

Les choses changent à partir du parallèle du Bîrlad vers le Sud, à travers la dépression moldave qui s'étend jusqu'au parallèle de Galați : dans cette région, soit dans les départements du Sud : Tutova, Tecuciu, Putna, etc., les *atroparvus* deviennent de plus en plus nombreux à mesure qu'on descend vers le Sud, dans les dunes de Focșani-Năməloasa.

b) En Bessarabie, la situation est presque la même qu'en Moldavie. A l'exception d'un système de collines boisées situées vers le centre-Nord, les trois quarts de la Bessarabie (portions centrale et méridionale) représentent une succession de plaines larges bordées par des collines d'érosion de l'ancien plateau sarmate. Les forêts sont ici complètement disparues, le sol est très aride et les petites rivières existant encore au fond des vallées vivent du même régime qu'en Moldavie.

L'image raciale des Anophèles est constituée toujours par le mélange des trois formes dont les *messæ-typicus* sont en prédominance dans les quelques parties hautes pour tomber en minorité vis-à-vis de l'*atroparvus,* dans tous les terrains arides où les gîtes larvaires, le plus souvent très réduits comme surface ou volume, ont le caractère saumâtre.

Tout le quart méridional de la Bessarabie correspondant à la dépression du Bugeac est dominé pour la plupart du temps par les *atroparvus,* tandis que la zone inondable du Nistrù est dominée en général par l'association *messeæ - typicus.*

En résumé, dans la Moldavie-Bessarabie, on doit compter, en dehors de l'anophélisme appartenant immédiatement aux vallées inondables et inondées des grands cours d'eaux, avec un autre anophélisme caractérisant toutes les plaines et tous les plateaux situés *entre* les grandes rivières. Ces terrains sont le plus souvent d'une constitution aride et sont pourvus de gîtes larvaires infiniment plus modestes que ceux de la première catégorie et souvent même excessivement réduits. Dans tous ces vastes territoires, on constate régulièrement l'intrication des trois races d'Anophèles, mais surtout on doit retenir la présence presque partout de l'*atroparvus* qui très souvent arrive à dominer de haut les autres races.

L'endémie palustre.

Si le paludisme est très fréquent le long des grands cours d'eau, il arrive, dans les plaines et plateaux moldo-bessarabien situés entre ces fleuves, à une densité souvent impressionnante.

Presque tous les villages situés à l'intérieur de ces terres, égrenés sur ces vastes étendues de plaines basses ou hautes, sont la proie du paludisme.

Des sondages exécutés par nous dans la population infantile (0-15 ans), dans plusieurs villages situés dans les plaines de Vasluieț, Racova, Bîrlad, etc..., au mois d'août 1937, dans le département de Vaslui, nous ont donné un indice splénique moyen de 55 % sur 1.400 enfants examinés, la rate hypertrophiée moyenne étant de 4 cm. 5. Ceci veut dire que l'endémicité réelle dans ces parages doit arriver jusqu'à 70 % au moins.

Dans le département de Jasi, par exemple, à l'exception de l'endémie palustre, existant sur le bord du fleuve Prut, tout le reste du territoire appartient, au point de vue de l'œcologie du paludisme, au type décrit ici par nous. Dans ce département, on avait, en 1935, enregistré 49.772 impaludés ; en 1936, 14.244 autres malades nouveaux ont été découverts ; en 1937, on enregistre 17.398 autres malades nouveaux. Dans les trois dernières années, par conséquent, presque la moitié de la population rurale (168.706) a été envahie par le paludisme.

Dans tous les autres départements de la Moldavie et de la Bessarabie, en dehors de leurs portions appartenant aux zones inondables du Nistre ou du Danube (zones de larges stagnations), et en dehors de leurs portions avoisinant le Prut ou les Carpathes, l'endémie palustre relève du même mécanisme que nous venons d'exposer ici. C'est ce que nous voudrions appeler le *paludisme des lignes intérieures*. Celui-ci serait caractérisé par :

des gîtes larvaires réduits;
un Anophélisme plutôt discret;
présence permanente et souvent domination de l'*atroparvus*;
grande fréquence et grande malignité du paludisme,

le tout lié à la structure du sol particulièrement riche en sels.

Pour ce qui concerne la Munténie-Olténie, nous avons affaire également à un *paludisme des lignes intérieures* pour toute la portion du territoire qui, entre les abords de la zone inondable du Danube et les collines sous-carpathiques, sont situés entre les grands cours d'eaux de l'intérieur.

Dans chacun des départements de ces provinces, l'endémie palustre, moins fréquente et moins grave dans la zone inondable proprement dite, augmente de valeur dès qu'on pénètre à l'intérieur. Dans ces parages, les grandes plaines très faiblement accidentées sont peuplées par un très grand nombre de villages, situés en général le long des dépressions, à la proximité des réserves d'eau. Les collections d'eau qu'on trouve ici sont souvent assez rares, mais même lorsqu'elles sont plus nombreuses, elles sont surtout insignifiantes comme volume, surface et débit. De très petites rivières dévalent lentement dans les dépressions, se transformant de place en place en de petits marécages et constituant les seules sources d'anophélisme. Le climat excessivement continental dessèche très souvent de bonnes parties de ces collections et les transforme en flaques d'eaux soumises à une évaporation très intense. Comme, dans l'immense majorité de la dépression de la Munténie-Olténie, le sol est souvent salé à la surface ou à une petite profondeur, les collections d'eau le sont aussi, d'où la présence universelle dans la région de l'*atroparvus*, à côté des autres races.

Il y a plus encore. Les mêmes gîtes larvaires qui, pendant les années très pluvieuses, hébergent des *typicus* et des *messeæ* comme races dominantes, peuvent se transformer pendant les années de sécheresse en gîtes à *atroparvus*. Même pendant une seule et même année, les mêmes gîtes contenant des *typicus* et des *messeæ* au commencement de la saison peuvent se transformer vers le milieu et la fin de la même saison en territoires d'*atroparvus*.

Le climat excessivement continental de la Roumanie peut provoquer, en effet, de longues et souvent de graves périodes de sécheresse estivale succédant à un printemps très pluvieux. Il est très possible que, grâce à l'évaporation très intense des gîtes larvaires, il arrive que l'eau des marécages s'enrichisse en sel provenant de la profondeur du sol sous-jacent et acquière ainsi un caractère plus ou moins saumâtre, qui empêcherait le développement des *typicus-messeæ* et favoriserait celui des *atroparvus* à leur place. N'importe quel serait le mécanisme de ce renversement de la formule raciale, le phénomène se produit bien dans la nature et nous l'avons constaté et confirmé par des études très serrées poursuivies pendant quatre années de suite, dans deux localités situées dans la plaine de la Munténie, où les races d'Anophèles ont été étudiées de manière ininterrompue tous les

sept-huit jours à travers toute l'année, l'été aussi bien que l'automne, le printemps ou l'hiver (1).

La conclusion de ces considérations est que la plaine de la Munténie-Olténie est tout aussi, comme une bonne partie de la Moldo-Bessarabie, un territoire où la race *atroparvus* est répandue plus ou moins uniformément (jusqu'à 700 kilomètres du bord de la mer), avec la tendance de dominer à l'époque convenable de l'année les autres deux races. Une autre caractéristique serait, à notre avis, la densité plutôt discrète de l'anophélisme dans certaines régions du paludisme des lignes intérieures, en opposition à la fréquence vraiment considérable du même anophélisme dans la zone inondable proprement dite du Danube.

On peut voir, dans les tableaux annexés, la fréquence du paludisme dans les deux provinces dont nous nous occupons (dép. Mehedinți, Dolj, Romanați, Teleorman, Vlașca, Ilfov, Ialomița, R. Sărat, Buzău, Brăila, etc.). Si nos considérations sont justes, l'endémie palustre dans chacune de toutes ces régions aurait une triple origine : *paludisme de la zone inondable du Danube, celui des vallées inondables des grandes rivières, paludisme des lignes intérieures.*

a) Dans le département de Teleorman, la grande majorité des environ 32.000 cas de paludisme sont disséminés, en dehors de la zone inondable du Danube avec son anophélisme immense, à l'intérieur de la plaine du Teleorman, le long de vallées insignifiantes comme débit et comme capacité de stagnation et entretenant un anophélisme incomparablement plus réduit que vers le Danube. Dans la vallée de Călmățuiul, par exemple, l'index splénique oscille entre 33 % - 56 % (Dorobanțul, Zlata, Florica, Salcia, etc.) ; dans la vallée de Teleorman, l'indice splénique arrive jusqu'à 70 % à Lăceni (1933).

b) Dans le département de Vlașca, il y a également un bel exemple de paludisme des lignes intérieures. Le long de la dépression de Cîlnișlea et de Glavacioc, sur une ligne traversant le département de l'Ouest à l'Est sur environ 40 kilomètres de longueur, il y a une population très dense agglomérée dans des villages dont la seule source de paludisme réside dans la petite rivière de Cîlnișlea avec quelques petits émissaires. Ce petit cours d'eau a un débit plus que modeste. Pendant l'été, le plus souvent, il se dessèche par place et se transforme ainsi en une succession

(1) Ces considérations sont tirées de près de 40.000 analyses de pontes étudiées pendant les années 1933, 1934, 1935 et 1936, et forment l'objet d'un mémoire en cours de préparation.

de marécages à eaux dormantes. La densité des anophèles est de beaucoup plus discrète que dans la vallée du Danube du même département. Des plantes halophiles, parsemées ici et là, mettent en évidence la nature salée du sol. Aussi les *atroparvus* constituent une forte proportion de la faune anophélienne (Drăgănești, Asanaga, etc.). Le paludisme dans cette région est assez grave, autant au point de vue quantitatif qu'à celui de la gravité des accès et des lésions organiques. Voici quelques chiffres concernant l'index splénique chez les enfants de 0-15 ans :

Localité	Ind. spl.	S. H. M. (1)	Total des enfants examinés
Drăgănești	54 %	3,2	320
Naipu	52 »	3,16	241
Ghimpați	32 »	2,8	185
		Total.....	746

c) Dans le département de Jalomița, juste en dehors de la zone inondable, dans la plaine du Bărăgan, l'index splénique varie entre 23 % à Ciocănești, 25 % Cacomeanca, 47 % Vărăști, 51 % Carol I.

On pourrait multiplier ces exemples dans toute la Munténie-Olténie, Moldo-Bessarabie.

PALUDISME A ELUTUS *DU LITTORAL MARIN*

Le déterminisme du paludisme dans le plateau dobrodgéen relève également de conditions relativement spéciales. Ce plateau est très dénudé, surtout dans sa partie centrale et méridionale. Il n'y a presque pas de cours d'eau. Les quelques collections qui existent ci et là sont pour la plupart saumâtres. Même l'eau des puits de profondeur est aussi le plus souvent saumâtre. Sur le bord même de la mer, on trouve, du Nord au Sud, un grand nombre de lacs permanents qui sont pour la plupart d'anciennes lagunes marines. Beaucoup d'entre eux sont très fortement salés, d'autres présentent des concentrations salines de tous les degrés. Ce n'est que vers le bord Ouest et Nord du plateau, le long du Danube, qu'on retrouve des bassins d'eau douce appartenant au régime du fleuve et qu'on revient à l'œcologie des moustiques et

(1) S. H. M. = rate hypertrophiée moyenne.

du paludisme caractéristiques pour la zone de larges stagnations de la vallée du Danube.

Dans ces conditions, le territoire en question représente une large zone d'*atroparvus* en populations presque pures, mélangées ci et là à des *typicus* et des *messeæ*. Ce n'est qu'au voisinage immédiat du bord du Danube, que les *messeæ* apparaissent en proportions plus élevées.

Le bord même de la Mer Noire — au moins sur environ 120 kilomètres de Constanța vers la frontière Sud que nous avons étudiée plus spécialement — présente un caractère nouveau, par l'existence dans ces parages de l'*A. elutus*.

Lorsque, en 1933, nous avons abordé, Martini et moi, l'étude des races d'Anophèles dans ces régions, l'avis général était que l'*elutus* qui caractérise toute la région circumméditerranéenne n'avancerait point au delà du parallèle des Balkans. La découverte que nous avons faite à cette époque de peuplements d'*elutus* dans quelques stations près de Constanța, a démontré que cette manière de voir n'était pas conforme à la réalité. Depuis, nos recherches personnelles ont mis en évidence l'existence de cette race en peuplements de plus en plus denses, sur toute la longueur du littoral citée ici. L'*A. elutus* fait donc bien partie de l'image raciale, normale et autochtone du littoral marin. On doit admettre que cette race, dans son avancement progressif de la Méditerranée vers le Nord, trouve sur le littoral roumain ses dernières antennes adaptatives, au moins jusqu'au parallèle du village de Mamaia, au Nord de Constanța. Nos recherches n'ont pas été poussées plus loin de cette dernière station, mais nous considérons comme très probable l'existence de *A. m. elutus* encore plus au Nord, au moins jusque vers les lacs Sinoe-Razelm.

Nous avons vainement cherché l'*A. elutus* plus loin du littoral, vers l'intérieur du pays. Il semblerait bien qu'il est strictement limité au bord de la mer, soit sur une largeur d'une douzaine de kilomètres tout au plus.

L'*A. elutus* coexiste sur le littoral avec les autres races : *atroparvus, messeæ* et *typicus*. Nous montrerons, dans une étude ultérieure, l'intéressant balancement de ces races entre elles d'une année à l'autre, et surtout pendant une seule et même année d'un mois à l'autre, Il y a aussi à considérer le caractère intradomestique de l'*elutus*, qui apparaît parfois très exagéré. En 1937, l'*elutus* représentait 60 % de toutes les races trouvées dans les habitations (calcul pour l'année entière). D'après nos recherches en préparation pour publication, il ressort que le rôle principal

dans la transmission du paludisme sur le littoral de la Mer Noire revient à l'*A. elutus* suivi immédiatement après par l'*atroparvus*. Le rôle des *messeæ* et des *typicus* semble être au moins très réduit.

En résumant cet exposé, on peut dire que le plateau central dobrodgéen présente trois bandes de terrains peuplées par des mélanges en proportions variables des races d'Anophèles :

le bord Ouest, le long du Danube, où l'*atroparvus* est souvent dominé par le *messeæ*;

la partie centrale dominée de haut par l'*atroparvus*;

le littoral marin peuplé par l'*elutus-atroparvus*, qui constituent ensemble les formes dominantes vis-à-vis des autres.

Le *paludisme* est répandu sur tout le Dobrodgea, mais celui qui sévit sur le littoral marin dépasse en intensité et en malignité tout ce que nous connaissons des fièvres palustres dans le reste du pays.

En 1935, il y avait 608 cas (100 % de la population) de paludisme à Agigea, 161 cas (52 %) à Lazu, 150 cas à Eforia, 526 cas à Tekirghiol, 712 cas à Mangalia et ainsi de suite. L'évolution clinique était presque toujours très grave. D'autre part, comme la transmission se maintenait à un rythme très haut, le traitement semblait n'avoir plus de prise sur les accès. Le tableau devenait encore plus impressionnant par l'infection massive des centaines et des milliers d'enfants amenés pendant l'été pour la cure héliomarine sur le littoral : la plupart de ceux-ci faisaient un paludisme de première invasion dont l'évolution était très dramatique.

Les mesures qui ont été prises depuis ont beaucoup changé la situation dans certaines localités, mais partout où les mêmes mesures n'ont pu être prises, l'endémie palustre maintient son caractère de gravité exceptionnelle.

*
**

En résumant cette vue générale sur les divers aspects de l'endémie palustre en Roumanie, nous pourrions conclure comme il suit :

1. La fréquence annuelle du paludisme en Roumanie est très grande. On doit admettre que l'on doit compter avec un nombre beaucoup plus grand de malades que les maximum de 400.000 exprimés dans les statistiques.

2. Dans plusieurs provinces, nous avons affaire à une endémie massive.

3. Au point de vue du mécanisme déterminant de l'endémie palustre, on pourrait distinguer divers types :

paludisme de la région inondable du Danube;
paludisme des grandes artères fluviales;
paludisme des lignes intérieures;
paludisme à *elutus* du littoral marin;

4. L'étude de la présence et de la répartition des races de *A. maculipennis*, malgré que grandement incomplète, permet d'établir quelques rapports intéressants entre ces races et le caractère et la répartition de l'endémie palustre. Aussi croyons-nous qu'il sera très nécessaire de poursuivre et d'élargir les recherches sur ces races.

TABLEAU I

Total des cas de paludisme enregistrés dans le pays (en milieu rural). Répartition par départements en 1935.

Département	Nombre de malades (enfants et adultes)			Observations
	Anciens malades de 1934	Nouveaux malades découverts en 1935	Total général	
Alba	0	228	228	
Arad	194	1.994	2.188	
Argeș	408	758	1.166	
Bacău	98	634	732	
Baia	169	3.616	3.785	
Bălți	7.848	8.151	15.999	
Bihor	1.771	2.202	3.973	
Botoșani	9.602	7.958	17.560	
Brăila	0	1.123	1.123	
Brașov	1	12	13	
Buzău	1.618	1.098	2.716	
Cahul	0	7.411	7.411	
Caliacra	0	661	661	
Cimpulung	5	5	10	
Caraș	0	11	11	
Cernăuți	2	54	56	
Cetatea Albă	0	779	779	
Ciuc	3	0	3	
Cluj	237	983	1.220	
Covurlui	11	3.134	3.145	
Constanța	21	5.008	5.029	
Dîmbovița	129	35	164	
Dolj	2.256	2 397	4.653	
Dorohoi	115	2.346	2.461	
Durostor	0	770	770	
Făgăraș	—	—	—	
Fălciu	603	4.122	4.725	
Gorj	190	328	518	
Hotin	2.659	1.436	4.095	
Hunedoara	0	91	91	
Ialomița	90	3.984	4.074	
Iași	30.284	19 488	49.772	
Ilfov	134	8 278	8.412	
Ismail	1.348	3.055	4.403	
Lăpușna	5.482	17.714	23.196	
Maramureș	0	36	36	
A reporter	65.278	109.900	175.198	

TABLEAU I *(suite)*.

Département	Nombre des malades (enfants et adultes)			Observations
	Anciens malades de 1934	Nouveaux malades découverts en 1935	Total général	
Report.....	65.278	109.900	175.178	
Mehedinți	0	771	771	
Mureș	253	1.063	1.316	
Năsăud	43	3	46	
Neanț	43	574	617	
Odorhei	0	10	10	
Olt	31	1.714	1.745	
Orhei	3.773	7.563	11.336	
Prahova	0	182	182	
Putna	10	665	675	
Rădăuți	0	94	94	
Rîmnicu Sărat	175	2.297	2.472	
Roman	584	4.438	5.022	
Romanați	127	1.772	1.899	
Sălaj	0	228	228	
Satu Mare	22	4.661	4.683	
Severin	37	59	96	
Sibiu	0	206	206	
Someș	36	2	38	
Soroca	1.308	1.445	2.753	
Storojineț	13	0	13	
Suceava	201	169	370	
Tîrnava Mare	—	—	—	
Tîrnava Mică	0	570	570	
Tecuci	0	4.093	4.093	
Teleorman	10.178	5.922	16.100	
Tighina	7.363	6.913	14.275	
Timiș	25	128	153	
Trei Scaune	16	40	56	
Tulcea	8	1.207	1.215	
Turda	25	949	974	
Tutova	1.419	5.111	6.530	
Vîlcea	19	32	51	
Vaslui	963	4.849	5.813	
Vlașca	141	9.614	9.755	
TOTAUX	92.091	177.244	269.335	

TABLEAU II

Total des cas de paludisme enregistrés dans le pays (en milieu rural). Répartition par départements en 1936.

Département	Malades découverts en 1936	Département	Malades découverts en 1936
		Report	86.398
Alba	387	Maramureș	49
Arad	734	Mehedinți	1.080
Argeș	677	Mureș	645
Bacău	345	Muscel	—
Baia	1 928	Năsăud	—
Bălți	4.341	Neamț	492
Bihor	1.677	Odorhei	6
Botoșani	6.487	Olt	1.091
Brăila	717	Orhei	3.862
Brașov	9	Prahova	183
Buzău	1.568	Putna	604
Cahul	9.104	Rădăuți	87
Caliacra	367	Rîmnicu Sărat	2.239
Cîmpulung	—	Roman	2.854
Caraș	9	Romanați	1.620
Cernăuți	35	Sălaj	169
Cetatea Albă	1.251	Satu Mare	3.816
Ciuc	1	Severin	72
Cluj	866	Sibiu	66
Constanța	3.900	Someș	58
Covurlui	3 397	Soroca	1.059
Dîmbovița	63	Storojineț	—
Dolj	1.173	Suceava	68
Dorohoi	2.108	Tîrnava Mare	—
Durostor	1.267	Tîrnava Mică	505
Făgăraș	1	Tecuci	2.233
Fălciu	2.628	Teleorman	5.463
Gorj	184	Tighina	1.137
Hotin	977	Timiș	260
Hunedoara	21	Trei Scaune	59
Ialomița	4.362	Tulcea	1.977
Iași	14 244	Turda	896
Ilfov	7.105	Tutova	6.394
Ismail	885	Vîlcea	13
Lăpușna	13.580	Vaslui	4.364
		Vlașca	8.337
A reporter	86.398	TOTAL Roumanie	138.156

TABLEAU III

Total des cas de paludisme enregistrés dans le pays (en milieu rural). Répartition par départements en 1937.

Départements	Malades découverts en 1937	Départements	Malades découverts en 1937
		Report	121.481
Alba	139	Maramureș	40
Arad	682	Mehedinți	1.607
Argeș	483	Mureș	146
Bacău	635	Muscel	4
Baia	1.283	Năsăud	—
Bălți	12.986	Neamț	370
Bihor (1)	13.460	Odorhei	2
Botoșani	6.094	Olt	1.021
Brăila	2.405	Orhei	10.191
Brașov	10	Prahova	266
Buzău	1.435	Putna	668
Cahul	9.750	Rădăuți	41
Caliacra	171	Rîmnicu Sărat	2.139
Cîmpulung	12	Roman	3.307
Caraș	1	Romanați	2.188
Cernăuți	38	Sălaj	211
Cetatea Albă	1.578	Satu Mare	1.498
Ciuc	2	Severin	29
Cluj	415	Sibiu	28
Constanța	5.585	Someș	92
Covurlui	3.306	Soroca	2.099
Dîmbovița	197	Storojinet	5
Dolj	2.022	Suceava	83
Dorohoi	2.993	Tîrnava Mare	—
Durostor	866	Tîrnava Mică	182
Făgăraș	1	Tecuci	6.312
Fălciu	4.042	Teleorman	11.122
Gorj	116	Tighina	10.123
Hotin	1.219	Timiș	408
Hunedoara	67	Trei Scaune	37
Ialomița	4.059	Tulcea	3.808
Iași	17.398	Turda	120
Ilfov	10.116	Tutova	5.236
Ismail	4.435	Vîlcea	38
Lăpușna	13.480	Vaslui	4.130
		Vlașca	8 499
A reporter	121.481	TOTAL Roumanie	197.531

(1) Département de Bihor : 13.460 malades enregistrés.

TABLEAU IV

INCIDENCE DU PALUDISME EN ROUMANIE

Nombre moyen de cas rapportés par départements entre 1925-1936, ainsi que le nombre maximum de cas enregistrés pendant cet intervalle.

	Nombre des paludéens			Nombre des paludéens	
	Moyen	Maximum		Moyen	Maximum
Roumanie	163.814	418.320	*Bessarabie*	44.889	105.293
			35. Bălți	8.352	20.480
Olténie	11.806	34.999	36. Cahul	5.293	9.104
			37. Cetatea Albă	1.225	2.613
1. Dolj	4.267	9.827	38. Hotin	1.720	3.185
2. Gorj	1.059	4.605	39. Ismail	2.731	9.864
3. Mehedinți	2.033	6.449	40. Lăpușna	12.015	24.974
4. Romanați	2.554	4.910	41. Orhei	5.143	11.336
5. Vîlcea	1.172	9.208	42. Soroca	3.071	9.562
			43. Tighina	5.339	14.275
Munténie	46.334	100.479	*Bucovine*	282	655
6. Argeș	1.379	3.841	44. Cîmpulung	6	11
7. Brăila	920	5.024	45. Cernăuți	41	65
8. Buzău	1.186	2.716	46. Rădăuți	49	110
9. Dîmbovița	906	2.803	47. Storojinet	13	54
10. Ialomița	3.030	5.800	48. Suceava	173	415
11. Ilfov	7.445	9.778			
12. Muscel	169	781	*Transsylvanie*	1.691	6.498
13. Olt	4.533	13.442	49. Alba	144	386
14. Prahova	473	1.648	50. Brașov	6	14
15. R. Sărat	982	2.472	51. Ciuc	1	12
16. Teleorman	15.150	28.379	52. Cluj	332	1.220
17. Vlașca	10.161	23.795	53. Făgăraș	2	12
			54. Hunedoara	37	111
Dobrodgea	4.897	12.743	55. Mureș	329	1.316
			56. Năsăud	5	46
18. Caliacra	662	1.519	57. Odorhei	5	14
19. Constanța	1.677	5.028	58. Sălaj	231	902
20. Durostor	767	1.267	59. Sibiu	44	206
21. Tulcea	1.792	4.928	60. Someș	41	197
			61. Tîrnăva Mare	1	11
Moldavie	48.813	143.365	62. Tîrnava Mică	162	570
			63. Trei Scaune	18	59
22. Bacău	197	734	64. Turda	333	1.422
23. Baia	1.563	5.510	*Banat*	397	1.293
24. Botoșani	7.487	17.560			
25. Covurlui	3.040	9.131	65. Caraș	27	176
26. Dorohoi	2.017	3.100	66. Severin	129	249
27. Fălciu	4.174	10.770	67. Timiș	241	869
28. Iași	15.660	49.772			
29. Neamț	234	752	*Crisana Maramures*	5.425	12.895
30. Putna	534	1.054			
31. Roman	2.483	9.025	68. Arad	795	2.188
32. Tecuci	2.751	7.285	69. Bihor	3.516	6.081
33. Tutova	4.249	11.772	70. Maramureș	20	49
34. Vaslui	4.426	16.900	71. Satu-Mare	1.093	4.577

REVUE DES TRAVAUX SUR LE LYSOZYME

par

L. MESROBEANU et O. NOEPPEL

On savait depuis longtemps que la défense des organismes vivants contre l'invasion microbienne était assurée par l'activité du système phagocytaire d'une part, et d'autre part, grâce à la présence dans le sérum sanguin de certaines substances bactéricides dont la nature chimique était très mal connue.

En 1922, Fleming [21, 22] découvre, dans presque toutes les sécrétions, les humeurs et les tissus des animaux, une diastase de nature protéique, qui a la remarquable propriété de tuer et de lyser certains germes saprophytes, diastase à laquelle il donne le nom de « lysozyme ». Evidemment, le fait que ce principe s'attaque avec prédilection à cette catégorie de microorganismes semble diminuer son rôle dans la pathologie infectieuse. Mais il ne faudrait pas oublier que l'organisme humain est en perpétuel contact avec des germes apparemment non pathogènes, qui se trouvent répandus en très grand nombre dans le milieu environnant. Les muqueuses oculaires, nasales, buccales, régions les plus exposées, deviendraient de vraies cultures bactériennes si, dans leurs sécrétions, il n'y avait pas ce principe, qui par son activité lytique détruit cette catégorie de germes en apparence inoffensifs. Un vibrion cholérique, un bacille typhique, dysentérique, etc., appartiennent à une catégorie sélectionnée de germes pathogènes qui arrivent accidentellement en contact avec l'organisme vivant. Néanmoins, quand cette invasion se produit, c'est alors qu'entre en jeu ce que Metchnikoff a appelé « l'appareil réactionnel inconscient », ou encore « les forces curatrices de la nature », et qui sont surtout représentées par le système phagocytaire.

Voici, du reste, comment Bordet [12] résume cette question : « ... La protection de l'organisme normal est assurée par une double enceinte, et le rempart extérieur, qui à lui seul suffit déjà à arrêter de nombreux ennemis, est représenté par l'acti-

vité lytique des humeurs et notamment des sécrétions fort exposées aux contaminations. Les germes qui parviennent à le franchir et qui, de la sorte, s'imposent davantage à notre attention, se heurtent alors à la seconde défense, que la phagocytose caractérise, et où se livre le combat décisif. Bien entendu, le tableau se complique particulièrement chez les êtres immunisés, de l'intervention de divers anticorps et de leur collaboration avec la phagocytose par le mécanisme le l'opsonification... »

Comme nous le voyons, à l'heure actuelle, l'importance du « lysozyme » dans la défense de l'organisme humain, ainsi que son rôle dans l'immunité naturelle, ne font plus aucun doute. Nous nous proposons, dans cette revue, d'envisager les divers aspects de cette question.

⁂

Le point de départ des travaux de Fleming [21] a été une étude bactériologique qu'il avait entreprise sur les sécrétions nasales des malades souffrant de coryza aigu. Fleming a observé que, dans les trois premiers jours après l'infection, le mucus nasal des malades reste stérile, tandis que, vers le quatrième jour, un germe Gram positif cultive en abondance. Ce germe qui, par la suite, a reçu le nom de *Micrococcus lysodeikticus*, pousse sur les milieux ordinaires en donnant des colonies petites, rondes, opaques et de couleur jaune citrin. Il ne liquéfie pas la gélatine et ne coagule pas l'albumine. Si l'on dépose sur une plaque d'agar une goutte de mucus nasal provenant des malades atteints de coryza, et qu'ensuite on ensemence le *Micrococcus lysodeikticus*, Fleming voit que ce germe ne se développe jamais là où on a mis le mucus. De même, une suspension très riche de ce germe, additionnée d'une très petite quantité de mucus, est lysée en quelques minutes à 37°.

Fleming s'est rendu compte que, dans le mucus nasal, il y avait une substance active, capable de lyser les bactéries, substance qu'il a désignée du nom devenu depuis classique de « lysozyme », et qu'il n'a pas réussi à séparer.

Les études de Fleming et de ses collaborateurs — sur lesquelles nous allons revenir en détail — ont été étendues et les auteurs ont constaté que le lysozyme se trouve dans presque toutes les humeurs et les tissus de l'organisme animal, et que la plus grande concentration de ce principe est donnée par les larmes et le blanc d'œuf.

Mais, avant d'aller plus loin, il convient ici de citer les précurseurs des travaux de Fleming, car, avant 1922, date de sa première publication, on trouve dans la littérature toute une série d'observations dans lesquelles on voit clairement que les auteurs ont eu entre leurs mains le même principe actif. En même temps, on verra que des substances bactéricides ont été mises en évidence depuis très longtemps dans le sang, et que leurs propriétés sont très voisines de celles décrites pour le lysozyme.

Laschtschenko, en 1909 [48], avait publié un travail dans lequel il décrivait l'action nocive et inhibitrice du blanc d'œuf ajouté au bouillon de culture. L'auteur constate que des bacilles comme : le *B. subtilis, Proteus Zopfii, Proteus Zenkeri, B. megatherium, B. mycoides,* sont tués entre 5-72 heures sur des milieux additionnés de blanc d'œuf. Cette action est si puissante que même après de fortes dilutions avec du bouillon simple, elle continue à se manifester. L'auteur indique qu'un chauffage à 55°-60° ne change pas l'activité du blanc d'œuf sur les bactéries citées plus haut, et qu'on doit atteindre une température de 65°-70° pour détruire cette action lytique. Il conclut que le blanc d'œuf contient une diastase puissante, de nature protéolytique, qui est responsable de l'action bactéricide et inhibitrice vis-à-vis des bactéries expérimentées.

Plus tard, Rettger et Sperry [76] confirment les données de Laschtchenko et étudient l'action nocive du blanc d'œuf sur d'autres germes comme le *Staphylococcus aureus, B. fluorescens liquefaciens* et *non-liquefaciens, B. putrificus, B. œdematis maligni.* Ils indiquent que l'activité du blanc d'œuf croît avec la température et que le pouvoir germicide est détruit entre 65°-70°.

Particulièrement, les travaux de Weil [92] et de Suzuki [86], publiés en 1911, démontrent d'une façon très nette que, dans les globules blancs des cobayes, il existe une substance bactéricide, agissant surtout contre les bactéries saprophytes de l'air et de l'eau. Cette action persiste même après le chauffage des globules. Inoculant un extrait de globules chez les animaux, ils n'arrivent pas à augmenter le pouvoir bactéricide vis-à-vis des microbes étudiés. Comme du reste Bail [5] le fait remarquer, les données de Fleming concordent parfaitement avec les découvertes de ces deux auteurs.

Les travaux de Turro, en 1921, indiquent [90] que des extraits chloroformiques, préparés à partir des globules blancs, du cerveau et du pancréas de chien, ainsi que des extraits de viande de mouton, ont un pouvoir lytique très marqué sur le *B. anthracis.*

En huit heures, une culture est complètement lysée. Cette activité reste manifeste pour le *vibrion cholérique,* mais par contre est très tardive pour le bacille typhique.

Turro conclut que les bactériolysines naturelles ne seraient pas des ferments spécialement élaborés par les polynucléaires seulement dans le but de défendre l'organisme contre l'invasion microbienne, mais qu'elles seraient des ferments hydrolytiques dont l'organisme dispose normalement pour digérer toutes les substances étrangères. Ainsi les protéases, amylases et les lipases cellulaires, qui ont une action bactériolytique très nette, font apparaître finalement la défense de l'organisme comme le résultat des propriétés diastasiques des éléments cellulaires.

Du reste les propriétés bactéricides du sang ont été décrites déjà en 1888 par Nuttall [71]. Ses expériences démontrent que le sang a une action nocive vis-à-vis des bacilles du groupe antrax-subtilis. Buchner, plus tard, établit le fait que le sérum normal, débarrassé des leucocytes, possède à lui tout seul la propriété de tuer certains microorganismes, mais cette qualité est détruite par un chauffage de 30 minutes à 55°. Les travaux ultérieurs sont venus élargir nos connaissances sur les propriétés bactéricides du sang. Ces propriétés sont dues à l'action de deux facteurs : les α-lysines et les β-lysines (Pettersson [75]). Les deux principes diffèrent entre eux par le degré de résistance à la chaleur. L'α-lysine détruite à 56° semble avoir une affinité plus marquée pour lyser le bac. typhique, tandis que la β-lysine, inactivée à 65°, s'attaque avec prédilection au bac. charbonneux.

Dans le cadre de cette revue, nous ne pouvons pas considérer en détail les nombreux travaux réalisés sur les α-lysines et les β-lysines; nous renvoyons le lecteur à la monographie de Pettersson, où il trouvera tous les renseignements nécessaires.

Comme nous le voyons, les propriétés générales des α-lysines, β-lysines et lysozyme sont très voisines; mais, à l'heure actuelle, on ne saurait préciser si chacune de ces substances représente une individualité chimique bien définie. Il est évident que le fait d'avoir réussi, comme nous le verrons plus loin, à obtenir le lysozyme cristallisé et à préparer des sérums anti-spécifiques, laisse espérer que le problème de l'individualité du lysozyme pourra être résolu à l'avenir grâce aux méthodes sérologiques classiques.

On savait, comme nous le voyons, déjà avant les travaux de Fleming, que des principes bactéricides se rencontrent dans le sang et dans de nombreux tissus animaux. Au cours de recher-

ches très approfondies, Fleming et ses collaborateurs ont confirmé la très large répartition du lysozyme, non seulement chez les êtres vivants, mais aussi chez des végétaux.

*
**

Dès la mise en évidence du lysozyme, de nombreux auteurs se sont attaqués au problème de sa purification, surtout en employant comme matière première le blanc d'œuf de poule excessivement riche en ce principe.

La première tentative a été faite par Wolff [88], ses opérations consistant essentiellement dans une déprotéinisation du blanc d'œuf par le fer colloïdal suivie d'une précipitation du lysozyme par l'acétone. Le résultat de ces opérations est une poudre blanche qui ne donne plus la majorité des réactions des albumines, mais qui contient de l'N, ainsi que du P et du S. Cette substance est néanmoins détruite par le contact avec la trypsine en 1 heure à 37°.

Bordet (M.) [14] acidifie le blanc d'œuf dilué par de l'acide citrique ou de l'acide acétique, et se débarrasse des albumines en les coagulant par un chauffage de quinze minutes à 100°. Dans le liquide surnageant, on précipite le lysozyme par l'alcool.

Meyer (K.) et ses collaborateurs [67] emploient le blanc d'œuf desséché, qu'ils traitent par un mélange d'alcool à 50 %, contenant 10 % d'acide acétique. L'extraction se fait à 60°-70°, pendant trente minutes. Du liquide surnageant contenant en grande quantité du mucoïde, les auteurs séparent le lysozyme, en le précipitant par l'acide flavianique, sous forme de flavianate. Pour libérer ensuite le lysozyme pur, le flavianate est décomposé à froid, par des extractions avec de l'alcool mélangé d'ammoniaque. Le flavianate peut être purifié par des recristallisations répétées de la pyridine à 50 %.

Les auteurs obtiennent finalement des préparations ayant 32.000 unités lytiques par milligramme, et le rendement de cette méthode est de 3,5 mgr. pour 20 milligrammes de blanc d'œuf en poudre (17,5 %). D'après Roberts, l'inconvénient de cette méthode est que le lysozyme est en partie détruit au moment de la décomposition du flavianate.

Roberts (H.) [79] commence sa purification de la même façon que Meyer et ses collaborateurs; mais, après l'élimination des albumines, il concentre dans le vide le liquide d'extraction et, sur les quelques centimètres cubes de liquide restant, pratique une

précipitation fractionnée à l'acétone. Le dernier précipité obtenu par l'addition d'un très grand excès d'acétone représente le principe actif. L'activité du produit ainsi obtenu est de 2.000-5.000 unités lytiques par milligramme de substance.

Le rendement est de 300-600 milligrammes pour 40 grammes de poudre de blanc d'œuf, ce qui représente 7,5-15 %.

En général, la difficulté de purifier le lysozyme à partir du blanc d'œuf réside dans le fait qu'il faut éliminer le mucoïde qui se trouve en très grande partie. Meyer, après l'extraction avec l'alcool acide, s'en débarrasse en faisant la précipitation par de l'acide flavianique qui précipite seulement le lysozyme.

Roberts, après l'extraction alcool-acide, sépare le mucoïde du lysozyme en faisant des précipitations fractionnées par l'acétone. Le mucoïde précipite dans les premières fractions, tandis que le lysozyme précipite par l'adjonction d'une très grande quantité d'acétone.

Enfin, Abraham et Robinson [1], employant le produit purifié de Roberts, ont réussi à cristalliser le lysozyme en une seule opération, à partir d'une solution n/20 d'acide acétique suivie d'une concentration de la solution aqueuse. Le poids moléculaire déterminé par ultracentrifugation est approximativement 18.000, et la préparation contient 4,4 % tyrosine, 2,2 % tryptophane estimés par le spectre d'adsorption en ultra-violet.

Dans un article récemment publié, Abraham [1*a*], travaillant sur le lysozyme purifié d'après Roberts, trouve que cette préparation contient 11,6 % arginine, 7 % cystine, 5,8 % lysine, 4,4 % tyrosine et 2,6 % histidine. Le matériel cristallisé ayant été obtenu par l'auteur en très petite quantité les recherches ont été effectuées sur un produit qui, malgré son apparente homogénéité à l'ultracentrifugation, contenait une fraction de solubilité plus réduite, avec une faible activité lytique et un poids moléculaire plus petit que le reste de la préparation.

Les titrations électrométriques de la fraction soluble et active ont démontré que l'auteur était en présence d'une protéine basique qui avait la propriété de fixer environ 23 groupements acides par molécule. Cette substance à pH 11,5 et à 25° fixait les bases à raison de 15 groupements par molécule.

⁂

Divers auteurs se sont préoccupés de mettre au point des techniques pour la détermination de l'activité du lysozyme. Nous don-

nons ici, à titre d'exemple, la méthode de Goldsworthy et Florey [33], employée le plus souvent.

Les cultures de *Micrococcus lysodeikticus* de 18 heures, lavées avec du sérum physiologique, sont ajustées comme opacité au tube n° 4 du « Brown Standard » à SO_4Ba. Une solution du lysozyme, contenant 1-2 milligrammes pour 10 centimètres cubes de sérum physiologique, est diluée de façon telle que chaque tube contienne la moitié de la quantité du tube précédent. Ensuite, 0,5 cc. de ces dilutions sont mises en contact avec 0,5 cc. d'émulsion bactérienne. On laisse le système une heure à 38°, et puis on fait la lecture.

L'unité de lysozyme est définie comme la quantité minima de lysozyme nécessaire pour produire une lyse complète de l'organisme test; la détermination des unités par milligramme de substance est ainsi une simple opération d'arithmétique.

Tous les auteurs ont employé, en lignes générales, la même technique; la température à laquelle se fait la lyse, la concentration de l'émulsion bactérienne, ainsi que le temps de la réaction, variant quelque peu pour chaque auteur.

Fleming et ses collaborateurs, pour mettre en évidence la sensibilité des bactéries envers le lysozyme, emploient des milieux solides coulés en plaques et qui renferment en un point seulement du lysozyme. L'ensemencement se fait sur toute l'étendue de la boîte, et le lendemain on constate que les bactéries sensibles à l'action du lysozyme ont poussé en abondance sur toute la surface, sauf là où le milieu renfermait ce principe lytique.

L'ACTION DU LYSOZYME SUR LES BACTÉRIES

Nous avons vu que Weil et Suzuki *(loc. cit.)* avaient déjà attiré l'attention sur le fait que les extraits des globules blancs ont un pouvoir bactéricide envers les microorganismes saprophytes de l'air et de l'eau.

Fleming [24] a isolé 104 souches de microbes à partir de l'air du laboratoire, et il a constaté que 75 % de ces souches sont lysées, plus ou moins vite, par une dilution de 1 % de crachat. De ces bactéries, 28 % sont dissoutes complètement dans l'espace d'une heure. Avec des microorganismes isolés à partir de l'organisme humain, l'auteur trouve des résultats assez variables. Les colibacilles sont les moins susceptibles à l'action du lysozyme, tandis que les streptocoques intestinaux se montrent les plus

sensibles, car de 15 souches mises en conctact avec du liquide synovial non dilué, riche en principe lytique, 12 souches ont été lysées complètement en l'espace de 8 heures à 45°, et 3 souches ont été lysées partiellement. Les larmes en dilution 1/1.000 ont un grand pouvoir lytique sur les streptocoques, tandis que, sur les colibacilles et sur les bacilles typhiques, ce pouvoir est nul, tout au plus constate-t-on une inhibition de la croissance.

D'ailleurs l'action du lysozyme sur les différentes bactéries se manifeste de trois façons différentes :

Inhibition de la culture;

Destruction sans lyse;

Destruction avec lyse.

Bactéries	Origine du lysozyme	Auteurs
Micrococcus lysodeikticus.	De toutes les origines.	Fleming.
75 % de bactéries saprophytes de l'air.....	Larmes, crachat.	»
Bactéries de l'air et de l'eau	Globules blancs, lait.	Weill, Suzuki, Bordet.
Streptocoques intestinaux.	Larmes, liquide synovial.	Fleming.
Streptococcus hémolyticus (H. Gay)	Blanc d'œuf.	Sandow.
Staphylococcus aureus...	» »	Rettger et Sperry, Sandow.
B. abortus	Larmes.	Fleming.
B. pseudotuberculosis rodentium	»	»
Meningococcus	Purifié à partir du blanc d'œuf.	Wolff, Melnik.
Gonococcus	Purifié à partir du blanc d'œuf.	» »
B. Megatherium	Blanc d'œuf.	Rettger et Sperry, Wollman.
B. anthracis	Extraits des différents tissus. Purifié à partir du blanc d'œuf.	Turro, Melnik, Wolff.
Vib. cholérique	Tissus.	Turro.
B. subtilis	Blanc d'œuf.	Rettger et Sperry, Sandow.
Sarcine	Blanc d'œuf purifié.	Meyer et coll.
B. cereus	Blanc d'œuf.	Rettger et Sperry.
B. Proteus Zenkeri.....	» »	» »
B. pullorum	» »	» »
B. fluorescens liquefaciens	» »	» »
B. putrificus	» »	» »
B. œdematis maligni....	» »	Rettger et Spery, Melnik.
B. Botulinique A et B..	» »	Melnik.
B. Perfringens	» »	»
Pneumocoque	» »	»
B. dys. Shiga, n^{os} 21, 17.	» »	»
B. typhi abdom., n^{os} 24, 65	» »	»

Dans le tableau qui précède, nous avons groupé tous les germes cités dans la littérature comme étant capables d'être lysés ou inhibés par le lysozyme de provenances différentes.

Il est à remarquer que des bactéries Gram négatives et pathogènes figurent aussi. Melnik surtout prétend avoir eu entre les mains certaines souches sensibles au lysozyme et qui n'ont pas été trouvées lysozymo-sensibles par d'autres auteurs (Shiga, typhique).

En ce qui concerne le bacille tuberculeux, Wolff [95] a prétendu avoir tué ce germe quand il le cultive en présence du lysozyme extrait du blanc d'œuf, tandis que Corper [19], avec un lysozyme préparé à partir du foie et de la rate des cobayes, n'obtient aucune action sur ce germe.

Fleming [26], d'autre part, a donné le tableau suivant pour démontrer l'action bactériolytique des extraits de différents organes sur diverses bactéries. Les extraits ont été préparés par broyage des tissus desséchés dans l'acétone, et la solution saline préparée est clarifiée avec soin par centrifugation pour le test.

Bactéries	Estomac	Intestin	Pancréas	Peau	Méninge
B. typhique	±	AC	AC	AC	±
para A	±	AC	AC	AC	—
para B	±	AC	AC	AC	±
Aertrycke	×	AC	AC	AC	—
V. cholerae	±	AC	AC	AC	±
V. paracholerae	×	±	AC	AC	—
B. dys. Flexner	×	AC	AC	AC	±
B. morgani	±	AC	C	±	—
B. pyocyaneus	±	±	AC	±	—
B. coli	×	±	AC	×	±
Staphylococcus aureus	×	±	—	×	Trace.
B. anthracis	±	AC	±	±	—

× = augmentation de l'opacité.
± = lyse partielle.
C = lyse complète.
AC = lyse presque complète.

Friedberger (E.), Hoder (F.) [30], ont démontré que le blanc d'œuf peut avoir sur les bactéries une action floculante qui se manifeste nettement sur des bactéries pathogènes comme les dysentériques. Ils constatent que ce phénomène est inhibé par de fortes concentrations en sérum physiologique, tout comme l'action du lysozyme, et ils concluent que l'action du lysozyme et la floculation par le blanc d'œuf sont deux aspects différents de l'action du même principe.

Intéressant est aussi le fait qu'Andersen [4] signale où l'on

voit que le lysozyme agit *in vivo* avec beaucoup de facilité. Il ensemence, dans la cavité péritonéale d'un cobaye, 5 œses de *Micrococcus lysodeikticus* et, tout de suite après, 1 centimètre cube de blanc d'œuf dilué à 1 : 100. Les microbes sont complètement lysés en quinze minutes, alors que, si on n'ajoute pas de lysozyme, la lyse se fait après une heure et demie.

LA PRODUCTION DES SOUCHES RÉSISTANTES A L'ACTION DU LYSOZYME

Fleming et Allison [23] ont démontré que le lysozyme incorporé aux milieux de cultures inhibe la croissance de la bactérie un certain temps; mais, au bout de quelques jours, les auteurs ont pu constater l'apparition des colonies, ce qui traduit l'apparition de bactéries résistantes à l'action lytique de l'enzyme.

Les cultures résistantes gardent longtemps leurs propriétés acquises. Ainsi, *Micrococcus lysodeiklicus* garde, pendant neuf mois (avec des repiquages à trois-quatre semaines d'intervalle), tout son pouvoir lysorésistant. Ce même germe, après un séjour de 91 semaines sur un milieu renfermant du blanc d'œuf, est lysable par une dilution 1/800 de blanc d'œuf, alors que primitivement ce même germe était sensible à une dilution 1 : 64.000 du même principe. Le *streptococcus fecalis,* dans les mêmes conditions, nécessite une dilution du lysozyme (blanc d'œuf) 1 : 5, par rapport à la dilution initiale qui lysait complètement le germe à 1 : 800. La lysorésistance des bactéries en question se manifeste pour le lysozyme de n'importe quelle provenance (larmes, navet, mucus, foie, etc.).

LA RÉPARTITION DU LYSOZYME

En ce qui concerne la répartition du lysozyme dans les humeurs et les tissus de l'homme et des animaux, Fleming et Allison [22] ont donné les tableaux suivants.

Divers tissus ont été essayés quant à leur pouvoir lytique. Préalablement, ils ont été déshydratés dans l'acétone pendant 24 heures, puis desséchés et broyés. 1 gramme de tissu ainsi préparé est suspendu dans du sérum physiologique et, après 24 heures de contact, on obtient par centrifugation un liquide surnageant clair qui sert à la titration.

LE LYSOZYME DANS LES LIQUIDES NORMAUX ET PATHOLOGIQUES DE L'ORGANISME

Liquides	Dilution maxima qui donne une lyse complète du *Micrococcus lysodeikticus*
Liquide cérébro-spinal	0
Urine normale	0
Matières fécales	0
Plasma citraté	1 : 80
Sérum provenant de sang défibriné	1 : 80
Sérum	1 : 270
Larmes	1 : 40.000
Salive	1 : 300
Crachat	1 : 13.500
Mucus nasal	1 : 13.500
Liquide pleural	1 : 80
» ascite	1 : 50
» hydrocèle	1 : 18
Pus 1	1 : 700
» 2	1 : 700
Liquide cyste ovarien	1 : 10
» » parotide	1 : 100

Tissus	Dil. max. qui donne une lyse complète
Foie	1 : 400
Rein	1 : 100
Amygdales	1 : 400
Intestin	1 : 500
Estomac	1 : 1.000
Méninges	1 : 400
Peau	< 1 : 100

Il est à remarquer que les divers organes homologues des différents animaux n'ont pas du tout la même teneur en lysozyme, comme le démontre ce tableau adapté par Fleming d'après les travaux de Florey [27].

LES DILUTIONS D'UN EXTRAIT A 1 % DE TISSUS QUI SONT ENCORE CAPABLES DE LYSER L'ORGANISME TEST

Tissus	Chat	Cobaye	Rat	Lapin	Chien	Homme
Rate	4	256	1.024	1.024	1.024	1.024
Rein	8	1.024	1.024	512	1.024	1.024
Poumon	2	512	1.024	512	256	1.024
Foie	0	32	8	128	512	1.024
Gl. salivaire	256	128	—	32	512	1.024
Lymphe	8	128	16	—	—	16
Estomac	4	64	32	32	16	1.024
Côlon	4	32	16	1.024	64	16
Surrénale	2	64	—	64	32	16
Cœur	0	16	0	32	8	32
Cartilage	1	128	—	—	—	1.024
Testicule	—	2	16	16	4	—
Cerveau	0	1	8	2	64	8
Muscle squelettique.	0	0	4	0	8	4
Ovaire	4	—	—	16	—	32

Le blanc d'œuf représente la source la plus riche en lysozyme et la plus commode à utiliser pour l'expérimentation. Fleming indique qu'une dilution à 1: 60.000.000 de blanc d'œuf est capable de lyser en quelques minutes le *Micrococcus lysodeikticus*.

Et il ne faut, du reste, pas s'étonner de cette richesse, car la coquille de l'œuf est beaucoup plus perméable qu'on ne le suppose à tous les germes du milieu ambiant. L'œuf deviendrait très vite une culture de bactéries saprophytes, s'il n'avait pas le lysozyme pour arrêter cette pénétration.

En ce qui concerne le jaune d'œuf, primitivement les auteurs étaient d'accord sur le fait qu'il est dépourvu de lysozyme, mais les travaux de Wolff [95] ont démontré qu'il est tout aussi riche que le blanc d'œuf, mais que la grande quantité des lipoïdes présents dans ce jaune retient le lysozyme et inhibe son action. En général, dans l'organisme, grâce aux lipoïdes et aux graisses, le lysozyme se trouve sous forme d'une combinaison assez stable et qui se dissout très difficilement dans l'eau. Wolff, pour démontrer la vraisemblance de sa théorie, fait l'expérience suivante. Il prend de l'huile d'olive qu'il agite avec du lysozyme et il constate que le mélange perd presque quantativement son titre en lysozyme, et que de cette combinaison on ne peut plus le séparer, même en employant les dissolvants des graisses. Pour le jaune d'œuf particulièrement, Wolff constate qu'après une courte agitation avec de l'eau, le titre lysozymique de la solution est à 1 : 10, mais après un traitement préalable avec SO_4Na_2, le titre atteint 1 : 80.000. En ajoutant maintenant au blanc d'œuf une certaine quantité de lécithine, l'auteur constate que le lysozyme n'est pas adsorbé; mais si, par contre, nous faisons la même expérience avec un lysozyme déprotéinisé par le fer colloïdal, on voit tout de suite la disparition du pouvoir lytique.

La théorie de Wolff pourra aussi expliquer, jusqu'à un certain point, les différences de titre en lysozyme qu'on constate lorsqu'on veut étudier divers organes ou encore des organes homologues de diverses espèces animales.

LE LYSOZYME DANS LES PLANTES ET TISSUS VÉGÉTAUX

Fleming [24] a examiné toute une série de plantes quant à leur teneur en lysozyme, et parmi lesquelles il cite : tulipe, navet, soleil, bouton d'or, ortie, pavot, œillet, sureau, pivoine.

Parmi ces plantes, il trouve seulement dans le navet des quantités marquantes, quoiqu'elles restent encore assez pauvres par rapport aux tissus animaux, car seulement jusqu'à la dilution 1/10, l'extrait peut clarifier la suspension du microbe test en l'espace d'une heure. Il est bien probable que l'acidité des extraits inhibe le lysozyme qui pourrait ainsi être beaucoup plus répandu qu'on le pense, dans le règne végétal. On trouve dans les travaux de Fleming, et en général chez tous ceux qui se sont occupés de la question du lysozyme, extrêmement peu de renseignements sur le lysozyme chez les plantes, et cette question reste au fond à élucider.

Kigasawa [45] ne trouve pas du lysozyme dans les feuilles de *Robinia Samboccus*, ni dans les fruits mûrs, tels que les prunes, abricots et pommes. De même les sucs de la pomme de terre, de la carotte et de l'oignon semblent être dépourvus de cette diastase. Seul le suc des radis en est riche. Il pourrait se faire — dit Kigasawa — que le lysozyme se trouve seulement à certains moments de la croissance des plantes.

Fleming donne un tableau des divers tissus végétaux qui ont été examinés pour déceler la présence ou l'absence du lysozyme.

	Présent	Absent
Tiges	15	7
Feuilles	7	6
Sépales	5	3
Pétales	10	1
Pistils	9	2
Etamines	11	2
Semences	13	4
Ecorce de la semence	4	0

LE LYSOZYME DANS LES BACTÉRIES

Fleming [24] a isolé, à partir de l'air, un microorganisme doué d'une action lytique considérable envers le *Micrococcus lysodeikticus*. La substance lytique de ce germe diffuse tout autour de sa colonie sur agar, et inhibe ou dissout complètement le *Micrococcus lysodeikticus*, ensemencé en même temps. L'élément lytique du germe en question est aussi présent dans les extraits et possède toutes les propriétés du lysozyme. Un extrait de trois jours est encore assez puissant pour clarifier, à une dilution à 1/250, une suspension opaque de *Micrococcus lysodeikticus*. Fleming pense que beaucoup de bactéries pourraient renfermer du lyso-

zyme. Du reste, le rôle antagoniste de certaines espèces bactériennes est très connu dans la bactériologie classique, mais nous ne possédons pas suffisamment d'indications précises sur la nature des substances responsables de cet antagonisme. Il pourrait se faire que le lysozyme joue un rôle important dans cette action.

LYSOZYME ET BACTÉRIOPHAGE

La lyse des bactéries par le lysozyme suggère immédiatement une comparaison avec l'action lytique du bactériophage. En étudiant parallèlement ces deux actions, des différences fondamentales apparaissent de prime abord. L'action du bactériophage est lente et se manifeste seulement sur des bactéries jeunes, l'action du lysozyme est rapide et a lieu tout aussi bien avec les bactéries vivantes qu'avec les bactéries tuées. La zone de température dans laquelle agit le bactériophage est beaucoup plus étroite que celle du lysozyme qui s'étend entre + 4° et 65°. Le lysozyme diffuse dans l'agar, tandis que le bactériophage ne diffuse pas. De plus, le lysozyme n'a jamais pu être transmis en série comme le bactériophage, et dans les cultures sur les milieux solides, on ne rencontre pas les « plages » caractéristiques dues à la présence du bactériophage dans les cultures lysosensibles. Un point commun entre le mécanisme de la lyse par le bactériophage et par le lysozyme, c'est la possibilité d'obtenir, à partir des cultures sensibles, des germes lysorésistants. En lignes tout à fait générales, on peut ajouter que le bactériophage lyse surtout les bactéries pathogènes et Gram négatives, tandis que le lysozyme s'attaque plus spécialement aux bactéries saprophytes et Gram positives.

Il est intéressant de noter que Wollman et Wollman [96] ont vu qu'en ajoutant aux cultures jeunes de *B. megatherium* une faible quantité de lysozyme, la lyse par ce principe met en liberté le bactériophage, qui primitivement ne pouvait être mis en évidence sur les cultures en gélose ordinaire.

Dans le même ordre d'idées, il faut ajouter l'observation de White [93] qui constate que l'activité d'un bactériophage pour le vibrion cholérique est exaltée par l'addition aux milieux de cultures d'une quantité de lysozyme sous forme de blanc d'œuf. Intéressant, mais encore obscur — quant à son mécanisme — est le phénomène suivant décrit par White. Des souches de vibrion cho-

lérique, apparentées par la spécificité de leur polysaccharide, peuvent être, les unes lysées dans les conditions ordinaires par le bactériophage donné, alors que les autres ne sont lysées par le même bactériophage que lorsque les germes ont été cultivés sur un milieu renfermant du lysozyme. Quant aux vibrions cholériques distincts des précédents par la spécificité de leurs polysaccharides, ils ne sont pas lysables par les bactériophages en question, même en présence du lysozyme. Les expériences montrent donc que, au moins dans certains cas, le lysozyme peut venir renforcer l'action lytique du bactériophage.

LES PROPRIÉTÉS PHYSICO-CHIMIQUES DU LYSOZYME

En ce qui concerne les propriétés physico-chimiques du lysozyme, nous allons indiquer celles décrites surtout par Meyer et ses collaborateurs [67], et par Roberts [79], qui ont eu entre leurs mains vraisemblablement les préparations les plus voisines de l'état de pureté chimique.

Le lysozyme est de nature protéique, mais se montre assez résistant à la chaleur, car il faut atteindre 70° pour le détruire. Son action croît avec la température entre 0° et 60°. Fleming a gardé près de dix ans des tissus riches en lysozyme qui ont conservé intégralement leur pouvoir lytique.

L'optimum d'action se situe à la neutralité. L'acidité, ainsi qu'une alcalinité trop forte, inhibe l'action du lysozyme. Nakamura [70] décrit un phénomène assez curieux sous le nom « d'alcali phénomène ». Les pH acides (vers 5,7) inhibent la lyse des bactéries par le lysozyme, mais si on vient à neutraliser le mélange diastase-bactéries, la lyse s'installe immédiatement quand le pH atteint 7,2. Hallauer [35], après des études détaillées, interprète ainsi l' « alcali phénomène » de Nakamura. En milieu acide, le lysozyme attaque les bactéries, chose qu'on peut voir aisément en étudiant leur aspect morphologique par des colorations avec le bleu de méthylène et la fuchsine phéniquée. En contact avec le lysozyme, les bactéries en milieu acide ont un aspect différent de celui des bactéries normales. Le corps est mal coloré, avec une zone périphérique très large, comme si dans cette zone il y avait un mucoïde. Les albumines bactériennes sont précipitées en milieu acide, donc la clarification de la suspension ne peut pas se réaliser sous l'action du lysozyme. Par contre, dès qu'on passe en milieu

suffisamment alcalin, les constituants cellulaires deviennent solubles et la suspension se clarifie. Kigasawa observe, du reste, que si aux lysats il ajoute la quantité d'acide nécessaire pour inhiber la lyse, les solutions se troublent immédiatement, par l'insolubilisation des constituants cellulaires.

La concentration en ClNa joue un rôle très important pendant la lyse, et à ce propos on trouve dans la littérature toute une série de recherches destinées à établir l'optimum de concentration en sel pour l'action du lysozyme.

D'après les différentes recherches, il semble qu'à 0,5 % de ClNa, la lyse se fait le mieux, tandis que des concentrations de l'ordre de 8 % l'inhibe totalement. Andersen [4] prétend que les solutions salines n'inhibent pas le lysozyme, mais elles empêchent le lysozyme de se fixer sur les bactéries, et c'est ainsi que s'explique la perte de l'activité lytique en leur présence. Les bactéries ne sont pas altérées par ces solutions salines, car si on ajoute de nouvelles quantités de lysozyme, la lyse se fait très bien. D'autre part, le lysozyme lui-même n'est pas altéré non plus, car si on dilue les solutions salines jusqu'à l'isotonie, le lysozyme retrouve toute son activité lytique; il est donc évident que les solutions salines concentrées n'altèrent ni le lysozyme, ni les bactéries; elles empêchent peut-être l'union du lysozyme et des bactéries, phénomène analogue à celui qui se passe pour les agglutinines des immuns-sérums dans les solutions hypertoniques (Friedberger-Joos). Evidemment, on pourrait aussi se demander, ici encore, si la trop grande quantité d'électrolyte n'empêche pas les constituants cellulaires de se dissoudre, nous privant ainsi du moyen de contrôler optiquement le résultat de l'action du lysozyme sur les bactéries. D'autres sels tels que l'iodure de K, chlorates de K, nitrates de K, inhibent la lyse à des concentrations moins élevées que celles du ClNa (2,5 %).

Le lysozyme ne perd pas ses facultés lytiques après son action sur les bactéries; au contraire, Fleming prétend qu'il est activé, chose du reste non confirmée par Nakamura, qui toutefois spécifie qu'une même préparation peut servir plusieurs fois à dissoudre des grandes quantités des bactéries. A ce sujet, tous les auteurs : Nakamura, Suranyi, Kigasawa, ont vu que la lyse finit par se ralentir après adjonctions fréquemment répétées de bactéries, et finalement elle devient très incomplète. Il semble qu'il y ait ici une question d'équilibre, comme cela se rencontre dans d'autres processus diastasiques, et qu'en définitive l'action du lysozyme doit être considérée comme un phénomène catalytique.

Les préparations de Meyer et ses collaborateurs, de Roberts, qui, comme nous l'avons déjà dit, semblent être les plus voisines de l'état de pureté chimique, donnent la plupart des réactions des albumines et ne donnent pas celles des sucres. Très peu solubles dans l'eau et ClNa normal, la solubilité de ces préparations croît avec l'adjonction d'acide acétique. Comme de très nombreux auteurs l'ont signalé, le lysozyme est insoluble dans les solvants organiques. Le sulfate d'ammonium à saturation, ainsi que l'acide trichloracétique, l'acide sulfosalycilique et le fer colloïdal précipitent le lysozyme. Son point isoélectrique est voisin de la neutralité. Par filtration sur bougie, il se dénature. Il dialyse à travers la cellophane, mais ne dialyse pratiquement pas à travers le collodion, qui laisse passer le bleu de méthylène, faits qui indiquent une taille moléculaire très petite pour le lysozyme. Gildemeister [31], étudiant la diffusion du lysozyme à travers la cellophane, arrive à la conclusion que sa taille moléculaire est plus petite que celle du bactériophage et de l'hémoglobine.

La nature basique du lysozyme explique la facilité avec laquelle on obtient des sels tels que les flavianates, picrates, styphnates, picrolonates, reineckates... dont certains ont été employés pour sa purification (Meyer et ses collaborateurs). Certains sels des métaux lourds (Au-Ag) précipitent le lysozyme avec perte de son activité. A la température ordinaire, le traitement avec 0,01 N de NaOH pendant dix minutes fait diminuer considérablement son activité (de 3.000 unités à 80 par milligramme).

Le lysozyme est aussi très sensible à l'action des peroxydes, ce qui fait suggérer à Meyer et ses collaborateurs, l'existence d'un groupe sulfhydrile dans sa molécule. Roberts indique qu'après une hydrolyse en présence de NaOH, il se met en liberté de la cystéine. Une préparation de Meyer, qui en lumière polarisée se montrait cristalline, a pour formule élémentaire :

$$C_{48,65}\ H_{6,44}\ N_{15,33}\ P_{0,31}\ S_{0,64}\ \text{Cendres}\ 3,31,$$

tandis que Roberts trouve, dans une préparation, à partir de laquelle Abraham et Robinson [1] ont pu obtenir des cristaux, une teneur en N de 13,3 %, en S de 1,95 %, et en cendres 3 %. La lyse a lieu tout aussi bien en aérobiose qu'en anaérobiose, et Hallauer [35] voit que, pendant son action, il y a une augmentation de N-aminé.

Les bactéries traitées par le phénol, le sublimé, le chloroforme et les rayons ultra-violets ne perdent pas la sensibilité au lyso-

zyme, mais l'alcool la diminue et même, après un contact prolongé, la supprime complètement. De même l'acide chromique rend les bactéries lysozymo-résistantes. Il faut dire que la lyse n'a rien à voir avec la vie ou la mort des germes, et qu'elle semble plutôt en rapport avec l'état des albumines bactériennes altérées ou non par les désinfectants.

D'autres expériences ont été faites sur l'action directe des désinfectants sur le lysozyme. On a vu ainsi que le toluène et le florure n'inhibent pas le lysozyme, tandis que le phénol à 20 % supprime son action. On a constaté également l'action nocive de la glycérine.

Allison a résumé, dans un tableau que nous allons reproduire, l'action de quelques antiseptiques sur la lyse du *Micrococcus lysodeikticus* par le lysozyme.

Antiseptique	Concentration inhibant l'action bactériolytique des larmes
Enosol	1 : 128
Chloramine T	1 : 32.000
Iode	1 : 64.000
Acide carbolique	1 : 80
Flavine	1 : 30.000

MÉCANISME DE LA LYSE DES BACTÉRIES PAR LE LYSOZYME

Hallauer [35], étudiant au microscope le comportement des bactéries sensibles à l'action du lysozyme, et surtout leurs modifications morphologiques, formule l'hypothèse que ce principe lytique hydrolyse les polysaccharides qui se trouvent dans la membrane bactérienne.

Meyer et ses collaborateurs [68] ont réussi à confirmer cette hypothèse, ayant à leur disposition une préparation pure de lysozyme. Ces auteurs ont constaté que ce principe met en liberté *in vitro* des sucres réducteurs à partir des mucoïdes de l'organisme test *(sarcina lutea)*. Cette action est suffisante, d'après eux, pour expliquer le phénomène de la lyse, ainsi que l'augmentation de N/non protéique et de P/inorganique qui l'accompagnent. L'action du lysozyme sur le polysaccharide microbien se traduit par une mise en liberté *in vitro* de un tiers des substances réductrices, qu'on peut obtenir par hydrolyse chimique. Sur l'ovomucoïde, les résultats sont identiques.

Meyer et collaborateurs ont signalé un fait curieux : après l'acétylation du polysaccharide microbien, ils obtiennent par action du lysozyme deux fois plus de sucre que n'en libère la préparation non acétylée.

L'action du lysozyme est spécifique, car il n'a aucune influence sur l'amidon, le glycogène, la mucine gastrique, le polysaccharide de l'humeur vitrée, l'ovomucoïde, la chitine et le mucoïde préparé à partir d'*Escherichia coli communis*.

Donc, d'après les expériences de Meyer et ses collaborateurs, il semble que le lysozyme soit un enzyme ou un mélange d'enzymes qui libèrent des sucres réducteurs à partir de certains mucoïdes et des polysaccharides qui en dérivent.

Les auteurs rapprochent avec justesse le lysozyme de la diastase décrite par Dubos et Avery, qui hydrolyse les polysaccharides capsulaires des pneumocoques.

Il convient de citer ici les travaux de Spanier et Deribas [83] qui, étudiant l'action des larmes et du blanc d'œuf sur le nucléinate de sodium (Merck), mettent en évidence une nucléotidase active, thermolabile, à optimum de pH 7,9. Mais comme ces auteurs travaillent avec des préparations assez complexes et non purifiées, ils concluent avec prudence qu'on pourrait faire la supposition que les propriétés bactériolytiques du lysozyme sont conditionnées par la présence de cette nucléotidase.

Bien entendu, toutes ces questions pourront dorénavant être solutionnées en employant le lysozyme cristallisé par la technique de Abraham et Robinson [1].

*
**

Dès le début de sa découverte, Fleming et ses collaborateurs, et en général tous ceux qui se sont préoccupés de ce problème, ont cherché à voir quel est le sort du lysozyme injecté dans l'organisme animal, et aussi quelle est sa capacité d'engendrer des anticorps quand il est inoculé à des animaux d'expérience.

En général, les résultats ont été tous négatifs en ce qui concerne la production d'anticorps, jusqu'aux travaux de Roberts. Dans un seul cas, Jermoljewa et Bujanowskaja [42], sans obtenir une réaction de précipitation *in vitro* avec le sérum anti, arrivent à neutraliser l'action lytique du lysozyme. Roberts et Wells [79], par contre, en inoculant chez le lapin leur préparation pure, extraite du blanc d'œuf, obtiennent un sérum anti qui donne *in vitro* une réaction de précipitation très nette. La

neutralisation des précipitines est aussi pratiquée par ces auteurs et avec des résultats concordants. Roberts, Maegraith et Florey [80] ont étudié comparativement des préparations de lysozyme extraites du blanc d'œuf, de la salive humaine et de la salive du chat. Il apparaît de leurs constatations qu'au point de vue sérologique, il y a une différence de spécificité tout à fait nette entre ces trois préparations, démontrant par là que ce principe, quelle que soit sa provenance, peut avoir une action identique sur les bactéries et que néanmoins, du point de vue sérologique, il peut présenter une spécificité bien marquée.

Wolff [94, 95] a montré d'autre part que le lysozyme, injecté par voie veineuse ou sous-cutanée aux animaux d'expérience, se retrouve dans le sérum sanguin; mais il est très vite éliminé du sang. Chose curieuse, c'est que le blanc d'œuf est tout aussi vite éliminé du sang, alors que les albumines étrangères persistent longtemps dans la circulation. Le lysozyme, après l'injection, passe en petites quantités dans l'urine qui normalement n'en contient pas. La grande majorité du lysozyme injectée doit s'emmagasiner quelque part dans l'organisme ou, ce qui est plus vraisemblable, se détruire. L'injection de ce principe se traduit par le fait qu'elle provoque la chute du nombre des leucocytes : les leucocytes polynucléaires disparaissent du sang périphérique, pendant que les leucocytes mononucléaires et les lymphocytes se maintiennent au taux habituel. Chez le lapin, on a constaté de la fièvre à la suite de l'injection. Il faut se demander cependant, étant donné les préparations non purifiées que Wolff a employées, si cette hausse de température n'est pas due aux impuretés introduites en même temps que le lysozyme dans l'organisme.

IMPORTANCE DU LYSOZYME DANS L'ALLAITEMENT DES NOURRISSONS

Divers auteurs ont mis en évidence la richesse du lait de femme en lysozyme, tandis que le lait de vache en est dépourvu. Cette constatation a donné lieu à des travaux concernant la flore intestinale des nourrissons allaités par le lait de femme et allaités artificiellement. Rosenthal et Liberman [81] ont constaté la présence du lysozyme dans les selles des nourrissons allaités par leurs mères, tandis que ceux qui reçoivent du lait de vache en sont privés. Les constatations expérimentales de ces auteurs,

ainsi que celles de Melnik et ses collaborateurs [54], ont démontré que les enfants nourris artificiellement sont plus exposés aux affections intestinales caractéristiques des nourrissons. Le lysozyme semblerait avoir le rôle de stabilisateur de la flore intestinale, en détruisant certains microbes de l'air qui envahissent l'intestin du nourrisson peu après la naissance. Il existe maintenant des préparations de lait pasteurisé enrichi en lysozyme.

D'autre part, Melnik dit que, dans la pratique populaire de son pays (Russie), on emploie depuis longtemps de l'eau avec du blanc d'œuf de poule pour le traitement des diarrhées infantiles estivales. De là aussi la contre-indication de sevrer les nourrissons l'été, quand la flore microbienne du milieu ambiant est plus abondante et les risques d'infection plus grands.

⁂

L'extrême richesse des larmes en lysozyme a incité toute une série d'auteurs à étudier la variation de ce principe dans diverses affections de l'œil. Toute une série d'observations existe maintenant dans la littérature à ce sujet. Il semble, premièrement, que l'âge n'a pas trop d'influence sur la richesse des larmes en lysozyme. Cavka et Prica [16] ont récolté du matériel sur des sujets dont l'âge allait de sept mois à soixante-dix-sept ans, et ils ont constaté que la teneur en lysozyme était sensiblement la même. Il en ressort de toutes ces données expérimentales que certaines maladies des yeux s'accompagnent d'un abaissement du taux de lysozyme dans les larmes. Ainsi James [41] constate, au cours des kératites syphilitiques ulcéreuses et du trachome, une importante diminution de ce principe. Mourzin et Souchkowa [69] précisent que le titre du lysozyme est abaissé surtout dans le premier stade du trachome. Hallauer [35] a déterminé la teneur de ce principe dans les larmes de 120 sujets atteints de conjonctivites normales, chroniques et aiguës, ainsi que dans des cas de kératites. Il a pu constater que la quantité de lysozyme est moindre dans les larmes provenant des irritations aiguës qui ont une sécrétion plus abondante, et aussi dans les cas où la maladie s'était développée sur une base de scrofule ou d'une diathèse lymphatique.

Jermoljewa et Bujanowskaja font des expériences sur le rôle du lysozyme dans la kératomalacie des rats nourris avec déficience de vitamine A. La diminution du titre lysozymique dans

ces affections réduit la résistance de l'œil et, par conséquent, augmente la facilité de l'infection. Andersen [4], dans des cas de xérophtalmie, conseille non seulement le régime riche en vitamine A, mais encore l'application de compresses de blanc d'œuf, pour éviter la dessiccation qui entraîne toujours la contamination rapide de l'œil.

Ridley [77], Rindello [78] étudient les infections provoquées par les staphylocoques et les streptocoques qui s'accompagnent toujours d'une diminution du lysozyme dans le liquide lacrymal. Généralement, quand un seul œil est affecté, le titre du lysozyme dans l'autre œil est resté normal.

Enfin, citons Penrose [73] qui, partant de l'idée soutenue par Cotton, Robertson, que les affections du nez et du tract alimentaire sont plus communes aux personnes atteintes de maladies mentales, étudie le lysozyme dans la salive de ces malades. Il trouve le titre normal dans tous les cas étudiés, sauf chez les parkinsoniens qui l'ont nettement abaissé. Il note que, dans ce genre d'affection, on suppose que l'infection se fait par la salive.

Ajoutons que Melnik et ses collaborateurs [48-62] ont appliqué le lysozyme dans le traitement de la blennorragie et dans diverses maladies infectieuses, et que dans certains cas ils prétendent avoir eu des résultats positifs.

*
**

Avant de terminer cet exposé, nous voulons attirer l'attention sur un fait qui nous semble assez important. Si le lysozyme a une affinité plus marquée pour des germes saprophytes, on rencontre dans la littérature toute une série d'observations sur l'action nocive ou inhibitrice de ce principe, vis-à-vis des germes pathogènes. Evidemment, le fait que tous les auteurs ne sont pas d'accord sur cette action laisse la question ouverte; mais il est à espérer qu'une étude systématique, dans laquelle on tiendrait compte de la sensibilité des diverses variantes microbiennes à l'action du lysozyme, pourra à l'avenir préciser le rôle de ce principe dans la défense de l'organisme contre l'invasion par les germes pathogènes.

BIBLIOGRAPHIE

1. Abraham (E.-P.) et Robinson (R.) : « Crystallization of Lysozyme. » (*Nature*, 1937, *140*, 24.)
1 *a*. Abraham (E.-P.) : « Some properties of eqq-white lysozyme. » (*Biochem. Journ.*, 1939, *33*, 622.)
2. Allison (V.-D.) : « The effect in the administration of vaccines in the lysozyme content of tissues and secretions. » (*British Journ. of exp. Path.*, 1924, *5*, 165.)
3. Allison (V.-D.) : « The antigenic properties of lysozyme dissolved vaccine. » (*British Journ. of exp. Path.*, 1925, *6*, 99.)
4. Andersen (O.) : « Untersuchungen über das Lysozym aus dem *Micrococcus lyzodeicticus*. » (*Zeit. f. Immunforsch.*, 1931, *70*, 90.)
5. Bail (O.) : « Ueber das Lysozym A. Fleming. » (*Wiener Klin. Woch.*, 1923, *36*, 107.)
6. Baker (S. L.) et Nanarutty (S.) : « A quantitative study of the effect of ultraviolet rays upon the bacteriophage. » (*British Journ. of exp. Path.*, 1929, *10*, 45.)
7. Barbel (I.-E.) : « Lysozyme content of lacrimae fluid after operation on eye ball. Preliminary Report. » (*Sovet. Vestnik. Oftal.*, 1935, *6*, 446.)
8. Blatt (M.-L.), Kessler (H.) : « Lysozyme content and bacterial count of human milk. » (*Amer. J. Dis Chil.*, 1937, *53*, 768.)
9. Bradford (W.-L.), Roberts (J.-B.) : « Blood lysozyme. » *J. Pediat.*, 1936, *8*, 24.)
10. Boasson (E.-M.) : « On the bacteriolysis by Lysozyme. » (*The Journ. of Immunol.*, 1938, *34*, 281.)
11. Bono (de) et Frisco : « Sul comportamento della ghiandola lacrimale e del suo secreto presso i microorganismi. » (*Arch. di Oftalmologia*, 1899, *7*, 195.)
12. Bordet (J.) et Bordet (M.) : « Le pouvoir bactériolytique du colostrum et du lait. » (*C. R. Acad. Sc.*, 1924, *179*, 1109.)
13. Bordet (M.) : « Contribution à l'étude du lysozyme. » (*C. R. Soc. Biol.*, 1928, *99*, 1252.)
14. Bordet (M.) : « Essais d'extraction du lysozyme. » (*C. R. Soc. Biol.*, 1928, *99*, 1254.)
15. Bulanov (P.) : « Différentiation of Brucella group bacilli by means of lysosyme. » (*Russian Journ. Microb. Epid. Imm.*, 1938, *20*, 78.)
16. Cavka (V.) et Prica (M.) : « Ueber Lysozymwirkung in normalen und pathologischen Augensekreten. » (*Arch. f. Ophtalmol.*, 1929, *121*, 740.)
17. Callerio (C.) : « Studi sul *Lysozym*. » (*Boll. Soc. Méd. Chir. di Pavia*, 1932, *46*, 699.)
18. Casazza : « Ricerche in campo dermato-venereologico sulla lisi provocata del *Micrococcus lysodeicticus*. » (*Estratto del Vol. offerto al Prof. Mantegazza dai suoi allieri*, 1933 [cité par Rindello]).
19. Corper (H.-J.) : « Lysozyme and Tuberculosis. » (*Amer. Rev. Tuberc.*, 1932, *25*, 59.)
20. Findlay (M.) : « A contribution to the aetiology of experimental Keratomalacia. » (*Brit. Journ. of exp. Path.*, 1925, *6*, 16.)
21. Fleming (A.) : « On a remarkable bacteriolytic element found in tissues and secretions. » (*Proc. Roy. Soc.*, série B, 1922, *93*, 306.)
22. Fleming (A.) et Allison (V.-D.) : « Observations on a bacteriolytic substance *(Lysozyme)* found in secretions and tissues. » (*British Journ. of exp. Path.*, 1922, *3*, 252.)
23. Fleming (A.) et Allison (V.-D.) : « On the development of strains of bac-

teria resistant to lysozyme action and the relation of lysozyme action to intracellular digestion. » (*Brit. Journ. exp. Path.*, 1927, *8*, 214.)

24. Fleming (A.) : « Arris and gale lecture on Lysozyme. A bacteriolytic ferment found normally in tissues and secretions. » (*Lancet*, 1929, *1*, 217.)
25. Ledingham (J.-C.-G.) : « Lysozyme. » (*Sist. of Bact.*, vol. 6, 1931, 42.)
26. Fleming (A.) : « Lysozyme. » (President's address. Sec. of Pathol. *Proc. Roy. Soc. Med.*, 1932, *26*, 71.)
27. Florey (H.) : « The relative amounts of lysozyme present in the tissues of some mammals. » (*British Journ. of exp. Path.*, 1930, *11*, 251.)
28. Fradkin (M.-Y.) : « Lysozyme therapy of infections. » (*Sovet. Vestnik. Oftal.*, 1935, *6*, 383.)
29. Frank (M.) : « Lysozyme in relation to *A. avitaminosis.* » (*Monatsschrift f. Kinderheilk.*, 1934, *60*, 345.)
30. Friedberger (E.) et Hoder (F.) : « Lysozym und Flockungsphänomen des Hühnereiklars. » (*Zeitschr. f. Immunforsch.*, 1932, *74*, 429.)
31. Gildemeister (E.) : « Untersuchungen über das Lysozym. » (*Zentralbl. f. Bakt.*, Abt. 1, 1936, *136*, 408.)
32. Gohar (M.-A.) : « On Lysozym. » (*Zentralbl. f. Bakt.*, Abt. 1, 1930, *119*, 240.)
33. Goldsworthy (N.) et Florey (H.) : « Some properties of mucus, with special reference to its antibacterial functions. » (*Brit. Journ. of exp. Path.*, 1930, *11*, 192.)
34. Gratia (A.) et Goreczky (L.) : « Das ultrazentrifugieren der Immunkörper und der normalen bakteriziden Stoffe. » (*Zeitschr. Immunforsch.*, 1938, *93*, 18.)
35. Hallauer (C.) : « Ueber das Lysozym. » (*Zentrblt. f. Bact. u. Parasit. Orig.*, Abt. 1, 1929, *114*, 519.)
36. Hewitt (F.-L.) : « Effect of Lysozyme on the oxidation reduction potentials of *M. Lysodeikticus* cultures. » (*Biochem. Journ.*, 1931, *25*, 1452.)
37. Heymans (M.) : « Contribution à l'étude du lysozyme. » (*Arch. intern. de Méd. exp.*, 1927, *3*, 223.)
38. Hilding (A.) : « Changes in lysozyme content of nasal mucus during colds. » (*Arch. Otolaryng.*, 1934, *58*, 88.)
39. Hilding (A.) : « Lysozyme one of natural eye defense factors. » (*Minnesota Med.*, 1935, *18*, 360.)
40. Hoder (F.) : « Steht die bakteriemaidlösende Wirkung des Lysozyms in einer Beziehung zur Wirkung der Immunkörper ? » (*Zeitschr. f. Immunforsch.*, 1931, *70*, 457.)
41. James (W.) : « The lysozym content of tears. » (*Am. J. of Ophtal.*, 1933, *18*, 1109.)
42. Jermoljewa (Z.-W.) et Bujanowskaja (I.-S.) : « Ueber die Natur des Lysozyms. » (*Zentralbl. f. Bakt.*, Abt. 1, 1931, *122*, 267.)
43. Juraszynoka (J.) : « Sur l'action bactéricide des larmes. » (*Bull. intern. Acad. Polonaise Sciences et Lettres*, classe de Médecine, 1938, nos 5-6, 331.)
44. Kigasawa (T.) : « Antigene Eigenschaften der Lysozyme. » (*Zeitschr. f. Immunitätsforsch.*, 1928, *57*, 146.)
45. Kigasawa (T.) : « Lysozymwirkungen des Eiereiweisses. » (*Zeit. Immunforsch.*, 1927-28, *54*, 155-180.)
46. Kimura (S.) : « Untersuchungen über Lysozymwirkungen in Tierkörper. » (*Arch. f. Hyg.*, 1925, *96*, 277.)
47. Kopeloff (N.), Harris (M.-M.) et McGinn (B.) : « Lysozyme in saliva. » (*Amer. J. Med. Sc.*, 1932, *184*, 632.)
48. Laschtschenko (P.) : « Ueber die keimtötende und entwicklungshemmende Wirkung von Hühnereiweis. » (*Zschrft. f. Hyg.*, 1909, *64*, 419.)
49. Linz (R.) : « Quelques propriétés du lysozyme purifié. » (*C. R. Soc. Biol.*, 1937, *126*, 1281.)

50. Linz (R.) : « Essai de purification du lysozyme de blanc d'œuf. » (*C. R. Soc. Biol.*, 1937, *126*, 1279.)
51. Melnik (M.-I.) et Jourbine (V.-I.) : « Recherches sur le lysozyme. I. Caractères généraux du lysozyme. » (*Bull. Inst. Metchnikoff*, 1936, n° 2, 69.)
52. Melnik (M.-I.) : « Sur un phénomène observé au cours de recherches sur le lysozyme. » (*Bull. Inst. Metchnikoff*, 1936, *3*, 133.)
53. Melnik (M.-I.) et Chariff (M.-S.) : « Essai d'application du lysozyme dans quelques dermatoses. » (*Ann. Inst. Metchnikoff*, 1936, *4*, 245.)
54. Melnik (M.-I.), Jourbine (V.-I.) et Kolesnikoff (L.-L.) : « Présence du lysozyme chez les nourrissons. » (*Bull. Inst. Metchnikoff*, 1936, 2, 77.)
55. Melnik (M.-I.), Netchajevsky (M.-P.) et Starobinetz (G.-M.) : « Action du lysozyme sur les microbes anaérobies. » (*Bull. Inst. Metchnikoff*, 1936, *2*, 73.)
56. Melnik (M.-I.) et Zeitline (A.-S.) : « Action du lysozyme sur les plaies suppurées. » (*Ann. Inst. Metchnikoff*, 1935, *2*, 41.)
57. Melnik (M.-I.) et Tscheviakoff (M.) : « Nouvelles observations sur l'activité immunisante des lysats du B. typhique par le lysozyme. » (*Bull. Inst. Metchnikoff*, 1936, *3*, 137.)
58. Melnik (M.-I.) et Natanson (D.-M.) : « Lysozyme dans les maladies ophtalmiques. » (*Bull. Inst. Metchnikoff*, 1936, *2*, 85.)
59. Melnik (M.-I.) et Pevsner (A.) : « Lysozyme dans la pratique de l'hôpital pour maladies infectieuses. » (*Bull. Inst. Metchnikoff*, 1936, *2*, 89.)
60. Melnik (M.-I.) et Tscherviakoff (M.) : « Etude comparative des propriétés immunisantes de différents antigènes dysentériques. » (*Bull. Inst. Metchnikoff*, 1936, *2*, 93.)
61. Melnik (M.-I.) et Tscherviakoff (M.) : « Propriétés antigéniques du lysat des B. Eberth obtenus au moyen de lysozyme. » (*Bull. Inst. Metchnikoff*, 1936, *2*, 97.)
62. Melnik (M.-I.) et Tscherviakoff (M.) : « Sur les propriétés antigéniques des lysats des B. dysentériques obtenus par le lysozyme. » (*Bull. Inst. Metchnikoff*, 1936, *2*, 101.)
63. Melnik (M.-I.) : « Un phénomène observé pendant l'étude du lysozyme. » (*Ann. Inst. Metchnikoff*, 1936, *3*, 1.)
64. Melnik (M.-I.) et Tscherviakoff (M.) : « Nouvelle étude des caractères antigéniques des lysats du B. dysentérique par le lysozyme. » (*Ann. Inst. Metchnikoff*, 1936, *3*, 21.)
65. Melnik (M.-I.) et Jourbine (V.-I.) : « Un phénomène observé pendant l'étude du lysozyme. » (*Ann. Inst. Metchnikoff*, 1936, *3*, 221.)
66. Meyer (K.), Thompson (R.), Palmer (J.-W.) et Khorazo (D.) : « The nature of lysozyme action. » (*Science*, 1934, *79*, 61.)
67. Meyer (K.), Thompson (R.), Palmer (J.) et Khorazo (M.) : « The purification and properties of lysozyme. » (*Journ. biol. Chem.*, 1936, *113*, 303.)
68. Meyer (K.), Palmer (J.), Thompson (R.) et Khorazo (D.) : « On the mechanism of lysozyme action. » (*Journ. of biol. Chem.*, 1936, *113*, 479.)
69. Mourzin (A.-N.) et Souchkowa (E.) : « Le lysozyme du liquide lacrymal. » (*Rev. Internat. Trach.*, 1935, n° 1, p. 1.)
70. Nakamura (O.) : « Ueber Lysozymwirkungen. » (*Zeitschr. f. Immunforsch.*, 1923, *38*, 425.)
71. Nuttall (G.) : « Experimente über die bakterienfeindlichen Einflüsse des tierischen Körpers. » (*Zeitschr. f. Hyg.*, 1888, *4*, 353.)
72. Penrose (L.-S.) : « The lysozyme content of saliva in psychotics. » (*Lancet*, 1930, *2*, 689.)
73. Penrose (M.) et Quastel (J.-H.) : « Cell structure and cell activity. » (*Proc. Roy. Soc. Med., S. B.*, 1930, *107*, 168.)
74. Pinner (M.) et Voldrich (M.) : « Lysozyme. The occurence of an apparently sterile phase; the relation of lysis to dissociation. » (*Journ. Infect. Dis.*, 1937, *60*, 6.)

75. Pettersson (A.) : *Die Serum. Lysine und die antibakterielle Immunität gegen die davon beeinflussten Mikroben*, 1934, 1 vol., 75 pages. Ed. Gustav Fischer, Iena.
76. Rettger (L.) et Sperry (J.) : « The antiseptic and bactericidal properties of egg-white. » (*Journ. Med. Res.*, 1912, *26*, 55.)
77. Ridley (F.) : « Lysozyme : An antibacterial body present in great concentration in tears and its relation to infection of the human eye. » (*Proc. Roy. Soc. of Med.*, 1927-28, *21*, 1495.)
78. Rindello (S.) : « Ricerche sul *Lysozym* in rapporto ad alcune questioni interessanti l'oftalmologia. » (*Boll. d'Ocul.*, 1936, *15*, 3.)
79. Roberts (E.-A.-H.) : « The preparation and properties of purified egg-white lysozyme. » (*Quart. Journ. of exp. Physiol.*, 1937, *27*, 89.)
80. Roberts (E.-A.-H.), Maegraith (B.-G.) et Florey (H.-W.) : « A comparison of lysozyme preparations from egg-white, cat and human saliva. » (*Quart. Journ. exp. Physiol.*, 1938, *27*, 381.)
81. Rosenthal (L.) et Lieberman (H.) : « The rôle of Lysozym in the development of the intestinal flora of the new-born infant. » (*Journ. Infect. Dis.*, 1931, *49*, 226.)
82. Sandow (A.) : « Anti-bacterial activity of egg-white. » (*Proc. exp. Biol. a. Med.*, 1927, *24*, 192.)
83. Spanier (P.) et Deribas (D.) : « Les études sur la nature enzymatique nucléolytique du lysozyme. » (*Rev. Microbiol. appliquée*, 1937, *3*, 61.)
84. Spanier (P.) : « Sur la nature fermentative des quelques bactériolysines thermostabiles en connection avec la question du lysozyme. » (*Rev. Microbiol. appliquée*, 1937, *3*, 67.)
85. Suranyi (L.) : « Ueber das Lysozym. » (*Zeitsch. Immunforsch.*, 1927, *49*, 166.)
86. Suzuki (S.) : « Ueber die Wirkungsweise der Leukozyten auf saprophytische Keime. » (*Arch. f. Hyg.*, 1911, *47*, 344.)
87. Tcherviakoff (M.) : « Etude sur l'immunisation des cobayes par les lysats de B. Eberth, additionnés de corps microbiens. » (*Bull. Inst. Metchnikoff*, 1936, *3*, 141.)
88. Thompson (R.) et Khorazo (D.) : « Susceptibility to Lysozyme of Staphylococci. » (*Proc. Soc. exp. Biol. a. Med.*, 1935, *33*, 299.)
89. Thompson (R.) et Gallardo (E.) : « Concentration in tears in acute and chronic conjunctivitis with note on source of lysozyme of tears. » (*Amer. J. Ophtal.*, 1936, *19*, 684.)
90. Turro (R.) : « Extraction des ferments cellulaires. » (*C. R. Soc. Biol.*, 1921, *84*, pp. 60, 290, 375 et 435.)
91. Uteveska (S.-L.) et Tamarina (A.-E.) : « Role of lysozyme of tonsils in local immunity. » (*Eksper. med.*, 1936, p. 91.)
92. Weil (E.) : « Untersuchungen über die Keimtötende Kraft der weissen Blutkörperchen. » (*Arch. f. Hyg.*, 1911, *74*, 303.)
93. White (P.-B.) : « Lysogenic strains of *V. choleræ* and the influence of lysozyme on Choleraphage activity. » (*Journ. Path. and Bact.*, 1937, *44*, 276.)
94. Wolff (K.-L.) : « Untersuchungen über das Lysozym. I. » (*Zeitschr. f. Immunforsch.*, 1927, *50*, 88.)
95. Wolff (L.-K.) : « Untersuchungen über das Lysozym. II. » (*Zeitschr. f. Immunforsch.*, 1927-28, *54*, 188.)
96. Wollman (E.) et Wollman (Mme E.) : « Mise en liberté des bactériophages d'une souche spontanément lysogène par l'action du lysozyme. Application à la détermination d'un rapport numérique entre bactéries et bactériophages. » (*C. R. Soc. Biol.*, 1935, *119*, 47.)

Le Gérant : J. Caroujat. Imprimé par F. Soulisse-Martin, à Niort (France).